

UNIVERSIDADE DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Curso de Pós-Graduação em Química

Karine Rocha Teófilo

**DETERMINAÇÃO DE 3,4-METILENODIOXIMETANFETAMINA (ECSTASY) POR
VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL EM COMPRIMIDOS E SALIVA
UTILIZANDO O ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO**

Diamantina - MG

2018

Karine Rocha Teófilo

**DETERMINAÇÃO DE 3,4-METILENODIOXIMETANFETAMINA (ECSTASY) POR
VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL EM COMPRIMIDOS E SALIVA
UTILIZANDO O ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM BORO**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

**Área de concentração: Química Analítica
Orientador: Prof. Dr. Wallans Torres Pio dos Santos
Coorientador: Prof. Dr. Leandro Rodrigues de Lemos**

Diamantina - MG

2018

Elaborado com dados fornecidos pelo(a) autor(a)

T314d

Teófilo, Karine Rocha

Determinação de 3,4-metilenodioximetanfetamina (ecstasy) por voltametria de pulso diferencial em comprimidos e saliva utilizando o eletrodo de diamante dopado com boro / Karine Rocha Teófilo, 2019. 89 p. : il.

Orientador: Wallans Torres Pio dos Santos

Coorientador: Leandro Rodrigues de Lemos

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Química) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019.

1. Ecstasy. 2. Voltametria de pulso diferencial. 3. Eletrodo de diamante dopado com boro. 4. Sistema aquoso bifásico. 5. Saliva. I. Santos, Wallans Torres Pio dos. II. Lemos, Leandro Rodrigues de. III. Título. IV. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

CDD540

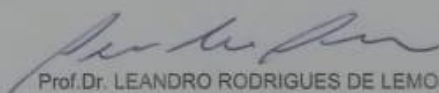
KARINE ROCHA TEÓFILO

**DETERMINAÇÃO DE 3,4-METILENODIOXIMETANFETAMINA (ECSTASY)
POR VOLTAMETRIA DE PULSO DIFERENCIAL EM COMPRIMIDOS E
SALIVA UTILIZANDO O ELETRODO DE DIAMANTE DOPADO COM
BORO**

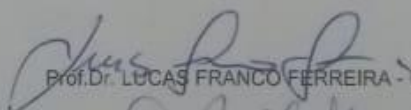
Dissertação apresentada ao
MESTRADO EM QUÍMICA, nível de
MESTRADO como parte dos requisitos
para obtenção do título de MESTRA
EM QUÍMICA

Orientador (a): Prof. Dr. Wallans
Torres Pio Dos Santos

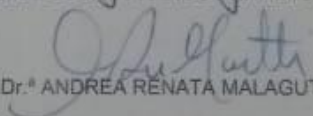
Data da aprovação : 30/11/2018



Prof.Dr. LEANDRO RODRIGUES DE LEMOS - UFVJM



Prof.Dr. LUCAS FRANCO FERREIRA - UFVJM



Prof.Dr.ª ANDREA RENATA MALAGUTTI - UFVJM

DIAMANTINA

*Dedico ao meu marido pelo companheirismo, amor
e dedicação. À minha mãe e meus avós pelo apoio e
carinho.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu marido Felipe Martins pelo amor, carinho, paciência, dedicação e por acreditar sempre que posso realizar meus sonhos.

Agradeço à minha mãe Simone Marie, meus avós Maria Ivete e Joaquim Coelho por serem exemplos de amor, humildade e sabedoria em minha vida.

Agradeço aos colegas e amigos de laboratório que fiz durante o mestrado, que me ajudaram com seus conhecimentos, companhias e incentivo.

Agradeço ao meu Orientador Wallans Torres Pio dos Santos e Coorientador Leandro Rodrigues de Lemos pelo apoio e contribuição do meu conhecimento adquirido ao longo desse período.

Ao UFVJM, Departamento de Química e o Programa de Pós-Graduação em Química pelo apoio e infraestrutura oferecida que possibilitaram a realização desse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

RESUMO

O 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA) é uma droga consumida em forma de comprimido, conhecido como *ecstasy*. Métodos analíticos simples e rápidos para triagem dessas substâncias são relevantes em aplicações clínica e forense. Nesse contexto, os métodos eletroanalíticos podem ser uma alternativa de triagem e quantificação para análise do MDMA em amostras apreendidas e biológicas. Dessa forma, o presente trabalho propõe um método voltamétrico para determinação de MDMA em comprimidos e saliva humana. As melhores condições foram obtidas em tampão Britton Robson (BR) em pH 10 como eletrólito suporte na célula eletroquímica, contendo três eletrodos: o Diamante dopado com Boro (BDD) como eletrodo de trabalho; o Ag/AgCl (KCl saturado) e um fio de platina como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente. Nessas condições foram observados dois picos de oxidação em +0,93 V e +1,24 V para o MDMA. Os parâmetros da voltametria de pulso diferencial (VPD) foram otimizados para velocidade de varredura de 10 mV s⁻¹ e amplitude de 100 mV. Nessas condições, uma boa repetibilidade foi obtida com um desvio padrão relativo (DPR) de 2,99% (N= 10). Uma ampla faixa linear foi alcançada de 1,06 a 422,00 µmol L⁻¹ (R = 0,997) com limite de detecção (LOD) de 0,50 µmol L⁻¹. O método proposto foi aplicado em amostras de comprimidos apreendidos obtendo uma recuperação em torno de 100%, além da validação dos resultados de detecção e quantificação por análises cromatográficas. O sistema aquoso bifásico (SAB) foi utilizado para extração do MDMA em amostras de saliva. Esse sistema foi composto por Poli(etileno)Glicol (PEG) 1500, predominante na fase superior (FS), e sulfato de lítio, predominante na fase inferior (FI). As fases do sistema foram utilizadas como eletrólito para maior praticidade do método. O estudo do comportamento do MDMA em cada fase foi realizado, sendo observado em ambas as fases um processo de oxidação para o MDMA no BDD. Nos estudos de repetibilidade para determinação do MDMA obtiveram DPR de 2,78% na FS e 2,00% na FI. Apesar do MDMA ter apresentado uma partição maior para a FS (95,00%), a FI foi escolhida para determinação do MDMA devido à não influência de interferentes. Os estudos de quantificação foram realizados nessa fase, obtendo um faixa linear de 8,30 a 420,00 µmol L⁻¹ (R = 0,996) com LOD de 4,15 µmol L⁻¹. Portanto, o método proposto pode ser uma alternativa simples e rápida para determinação de MDMA em comprimidos e saliva humana apresentando grande potencial para ser aplicado na área forense.

Palavras-Chaves: *Ecstasy*, MDMA, Voltametria de Pulso Diferencial, Eletrodo de Diamante Dopado com Boro, Sistema Aquoso Bifásico, Saliva.

ABSTRACT

The 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) is a drug is taken in tablet form, which is known as ecstasy. Simple and rapid analytical methods for screening for these substances are relevant in clinical and forensic applications. In this context, electroanalytical methods can be an alternative of screening and quantification for MDMA analysis in seized samples and biological samples. Therefore, the present work proposes an voltammetry method using an unmodified, the boron-doped diamond (BDD), for MDMA determination in pills and human saliva. The optimum condition was obtained in Britton Robinson (BR) buffer pH 10 as support electrolyte in the electrochemical cell, with three electrodes: the BDD as working electrode; the Ag/AgCl (KCl saturated) and a platinum wire as reference and counter electrodes respectively. In these conditions, two oxidation peaks were observed at +0.93 V and +1.24 V for MDMA. The parameters of differential pulse voltammetry (VPD) technique were optimized for scan rate of 10 mV s^{-1} and amplitude of 100 mV. In these conditions, a good repeatability study was obtained with a low relative standard deviation (RSD) of 2.99% ($N = 10$). A good linear range has been achieved from 1.06 to $422.00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0.997$) with limit of detection (LOD) of $0.50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. The proposed method was applied in seized samples and the addition-recovery studies in these samples showed were around 100 %. In addition the obtained results by proposed method were validated by a chromatographic method. The aqueous two-phase system (ATPS) was utilized for extration of the MDMA in saliva samples. The ATPS was based on the PEG 1500 (predominant in the upper phase) and lithium sulfate (predominant in the lower phase). The phases of ATPS were used as own support electrolyte to improve the simplicity of application of the method. The behavior study of the MDMA in each phase was performed, in which was observed the MDMA oxidation process at BDD in both phases. The repeatability study for MDMA determination obtained RSD of 2.78% in the upper phase and 2.00% were in the lower phase. Although MDMA presented a larger partition in the upper phase (95%), the lower phase was chosen for the determination of MDMA due to the non-influence of saliva. Hence, the quantification studies were performed in the lower phase, obtaining a linear range of 8.30 to $420.00 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ($R = 0.996$) with LOD of $4.15 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. Therefore, the proposed method can be used as a simple and fast alternative for MDMA determination in seized (tablet) samples and human saliva, allowing the application to the forensic analysis.

Keywords: Ecstasy, MDMA, Differential Pulse Voltammetry, Boron Doped Diamond, Two-phase Aqueous System, Saliva

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas das anfetaminas e feniletilamina.....	26
Figura 2 - Estrutura química dos possíveis interferentes do MDMA	28
Figura 3 - Teste colorimétrico para identificação de MDMA	30
Figura 4 - Configuração dos três eletrodos eletroquímicos, sendo da esquerda para direita desenhado um exemplo de eletrodo de referência, trabalho e auxiliar (contra-eletrodo).....	33
Figura 5 - A) aplicação do potencial na VC em função do tempo. B) exemplo de voltamograma cíclico	34
Figura 6 – A) aplicação do potencial na VPD em função do tempo. B) exemplo de voltamograma de pulso diferencial.....	35
Figura 7 - A) aplicação do potencial na VOQ em função do tempo. B) exemplo de voltamograma de onda quadrada	36
Figura 8 - Exemplo da composição global e de cada fase (Composição química associado ao sistema PEG 1.500 e fosfato de potássio, a 25°C e pH=7).....	39
Figura 9 - Diagrama de fases retangular de um SAB formado por um polímero e um sal	40
Figura 10 - Modelo de célula eletroquímica utilizada nas análises, a) eletrodo de referência, b) eletrodo auxiliar, c) eletrodo de trabalho (BDD) e d) placa de cobre	43
Figura 11 - Salivette® A) Tubo contendo os componentes do kit. B) Tampa do kit, algodão para coleta, tubo utilizado para coleta da saliva e tubo no qual fica armazenado a saliva coletada após centrifugação	44
Figura 12 – Esquema do preparo do SAB para análise.	49
Figura 13 - Voltamograma cíclico do tampão BR pH 10 (linha preta) e do MDMA 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR pH 10 (linha vermelha) a 50 mV s^{-1} sob o eletrodo de BDD.....	51
Figura 14 – Corrente de pico (A) e potencial de pico (B) do primeiro processo de oxidação do MDMA em função do pH.	52
Figura 15 - Estudo de pH do segundo processo de oxidação A) Corrente de pico em função do pH; B) Potencial em função do pH.	53
Figura 16 - Voltamograma cíclico do MDMA em meio ao tampão borato (linha verde), tampão bicarbonato (linha azul) e TBR (linha vermelha) usando o eletrodo de BDD com tratamento catódico.....	54
Figura 17 - Voltamogramas cíclicos em TBR pH10 (linha preta) e com adição do MDMA após o tratamento catódico (linha vermelha) e tratamento anódico (linha azul).....	54
Figura 18 - Mecanismo de oxidação do MDMA.	56
Figura 19 - Estudo da velocidade de varredura do MDMA 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de BDD em tampão BR pH 10 A) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura B) Regressão linear das correntes de pico para o primeiro processo de oxidação em relação a raiz quadrada da velocidade de varredura.	57
Figura 20 - Otimização da velocidade de varredura em VPD, utilizando uma solução de MDMA a 134 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de BDD	57
Figura 21 - Otimização da amplitude em VPD utilizando uma solução de MDMA a 132 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de BDD.....	58

Figura 22 - Otimização da escada de potencial em VOQ, utilizando uma solução de MDMA a $1,32 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de BDD	59
Figura 23 - A) Otimização da amplitude em VOQ. B) Otimização da frequência em VOQ, ambos utilizando uma solução de MDMA a $1,32 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de BDD.....	59
Figura 24 - Teste de repetibilidade do MDMA $132 \mu\text{mol L}^{-1}$ em meio tampão BR pH 10 sob o eletrodo de BDD. A) Voltamograma de pulso diferencial de dez análises consecutivas de uma solução de MDMA à $132 \mu\text{mol L}^{-1}$. B) Corrente de pico do primeiro processo de oxidação das dez medidas a partir do VPD. Os dados foram tratados corrigindo a linha de base.	60
Figura 25 - (A) VPDs sobre BDD obtidos em concentrações de MDMA de (a) 1,0 a (i) $430 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão VR pH 10, Amplitude de 100 mV e velocidade varredura de 10 mV s^{-1} . Em destaque os picos de oxidação observado em baixas concentrações. B) Regressão linear da corrente de pico do MDMA em função das concentrações. Os dados foram tratados corrigindo a linha de base.....	61
Figura 26 - A) VPD do MDMA $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha vermelha), A $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha rosa), MDEA $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (verde claro) e MA $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha azul escuro) B) VPD do MDMA $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha vermelha), bk-MDMA $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha roxa) e MDPV $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha vinho) C) VPD do MDMA $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha vermelha) e mCPP $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha laranja), BZP $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha lilás) D) VPD do MDMA $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha vermelha) e 2C-B $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha azul claro). Todas as análises foram feitas em meio tampão BR pH 10, amplitude de 100mV e velocidade de varredura 10 mV s^{-1}	64
Figura 27 – A) Cromatograma do padrão de MDMA $60 \mu\text{mol L}^{-1}$. B) Regressão linear da absorbância do MDMA em função das concentrações.....	66
Figura 28 - Voltamograma de pulso diferencial do TBR pH10 (linha preta), da saliva natural (linha vermelha) e do MDMA (linha azul) sob o eletrodo de BDD. Os dados foram tratados corrigindo a linha de base.	67
Figura 29 - Voltamograma cíclico do MDMA na FS (linha azul) e na FI (linha vermelha) sob o eletrodo de BDD	68
Figura 30 - Estudo da velocidade de varredura do MDMA $150 \mu\text{mol L}^{-1}$ nas fases do SAB sob o eletrodo de BDD. A) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura na FI; B) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura na FS; C) Regressão linear das correntes de pico em relação a raiz da velocidade de varredura da FS (pontos pretos) e da FI (pontos vermelhos).	69
Figura 31 - Teste de repetibilidade do MDMA sob o eletrodo de BDD com amplitude de 100mV e velocidade de varredura 10 mV s^{-1} . A) Voltamograma de pulso diferencial de dez análises consecutivas de uma solução de MDMA à $150 \mu\text{mol L}^{-1}$ na FS; B) Voltamograma de pulso diferencial de dez análises consecutivas de uma solução de MDMA à $150 \mu\text{mol L}^{-1}$ na FI; C) Corrente de pico do MDMA na FS (vermelho) e FI (preto) das dez medidas a partir do VPD. Os dados foram tratados corrigindo a linha de base.	70
Figura 32 - A) VPDs do MDMA de $96 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $384 \mu\text{mol L}^{-1}$ na FS; B) VPDs do MDMA de $8,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $420 \mu\text{mol L}^{-1}$ na FI; C) Regressão linear da corrente de pico do MDMA de acordo com cada concentração na FS; D) Regressão linear da corrente de pico do MDMA de acordo com cada concentração na FS. Todas as análises foram realizadas com amplitude 100 mV e velocidade de 10 mV s^{-1} . Os dados foram tratados com correção de linha de base.	71
Figura 33 - VPD da FS (linha roxa) em branco, da saliva na FS (linha verde), da FI (linha preta) em branco e da saliva na FI (linha vermelha) com amplitude 100mV e velocidade de varredura 10 mV s^{-1}	74

Figura 34 - A) Voltamogramas de pulso diferencial do AA (linha azul), AU (linha rosa) e do MDMA (linha vermelha) na FI; B) Voltamogramas de pulso diferencial do AA (linha azul), AU (linha rosa) e do MDMA (linha vermelha) na FS..... 74

Figura 35 - A) VPD da FI somente com adição da saliva (linha preta), com adição somente do MDMA (linha vermelha) e adição da saliva dopada com MDMA (linha verde); B) VPD da FS em branco (linha preta), da FS com adição da saliva (linha verde), com adição do MDMA (linha vermelha) e com adição da saliva dopada com MDMA (linha azul). As análises foram realizadas com amplitude 100mV e velocidade de varredura de 10mV s⁻¹. Os dados foram tratados corrigindo a linha de base. 76

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Teste de reprodutibilidade do MDMA sob o eletrodo de BDD	60
Tabela 2 - Comparação dos resultados obtidos com trabalhos já publicados	63
Tabela 3 - Análise de adição e recuperação em comprimidos de ecstasy	65
Tabela 4 - Doseamento das amostras de ecstasy.....	66
Tabela 5 - Resultados do teste F e teste <i>t-pareado</i>	66
Tabela 6 - Partição do MDMA no SAB.....	73
Tabela 7 - Partição do MDMA em presença de saliva no SAB.....	75

LISTA DE SIGLAS

25-NBoMe – 2,5-dimetoxi-N-2-metoxibenzilfenetilamina

2C-B - 4-bromo-2,5-dimetoxifenetilamina

A - Anfetamina

AA – Ácido Ascórbico

AU – Ácido Úrico

BDD – Eletrodo de Diamante dopado com boro

BR – Tampão Britton Robson

bk-MDMA – Metilone

BZP – 1-benzilpiperazona

CG-MS - Cromatografia gasosa com detecção em espectrometria de massas

CLA – Comprimento da Linha de Amarração

CVD - *Chemical Vapor Deposition*

DPR – Desvio padrão relativo

FI – Fase Inferior

FS – Fase Superior

HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência

LA – Linha de Amarração

LB – Linha binodal

LOD – Limite de Detecção

LSD – Ácido Lisérgico

MA - Metanfetamina

MAO A – Monoaminoxidase A

mCPP - 1-(3-clorofenil)piperazina

MDA - 3,4-metilenodioxianfetamina

MDE – N-etil-3,4-metilenodioxianfetamina

MDEA - 3,4-metilenodioxietilfetamina

MDMA – 3,4-metilenodioximetanfetamina

MDPV - 3,4-Metilenodioxipirovalone

ME - Mefedrone

MMDA – 5-metoxi-3,4-metilenodioxianfetamina

NPS – Novas substâncias psicoativas

PEG – Poli (etileno) glicol

SAB – Sistema aquoso bifásico

SNC – Sistema Nervoso Central

VC – Voltametria cíclica

VOQ – Voltametria de Onda Quadrada

VPD – Voltametria de Pulso Diferencial

SUMÁRIO

1INTRODUÇÃO	21
2OBJETIVOS	23
2.1 Objetivo geral.....	23
2.2Objetivos específicos.....	23
3REFERENCIAL TEÓRICO	25
3.1Considerações gerais	25
3.2 <i>Ecstasy</i> e MDMA.....	26
3.3Métodos analíticos para detecção de MDMA	29
3.4Eletrodo de diamante dopado com boro, BDD	31
3.5TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS	32
3.5.1Voltametria cíclica, VC	34
3.5.2Voltametria de pulso diferencial, VPD	35
3.5.3Voltametria de onda quadrada, VOQ	36
3.6Sistema aquoso bifásico, SAB	37
3.6.1Fundamentos do SAB.....	38
4PARTE EXPERIMENTAL	43
4.1Instrumentação	43
4.2Reagentes e soluções	43
4.3Detecção eletroquímica	44
4.4Otimização dos parâmetros da VPD e VOQ.....	45
4.5Avaliação dos parâmetros analíticos	46
4.5.1Análise de repetibilidade e reprodutibilidade.....	46
4.5.2Estudo de linearidade do método	46
4.6Teste de adição e recuperação em amostras de comprimido.....	47
4.7Teste de interferentes em amostras de comprimidos	47

4.8	Comparação com o método proposto.....	47
4.9	Sistema aquoso bifásico	48
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5.1	Comportamento eletroquímico do MDMA	51
5.2	Otimização dos parâmetros de VPD e VOQ	57
5.3	Análise de repetibilidade e reprodutividade.....	60
5.4	Estudo de linearidade e limite de detecção	61
5.5	Teste de interferentes em comprimidos	63
5.6	Estudo de adição de recuperação em amostras de <i>ecstasy</i>	65
5.7	Comparação do método proposto.....	65
5.8	Análise do MDMA em saliva.....	67
5.9	Avaliação dos parâmetros analíticos do SAB	70
5.10	Partição do MDMA no SAB.....	72
5.11	Análise da saliva no SAB	73
6	CONCLUSÃO	77
	REFERÊNCIAS	79
	APÊNDICE A - PRODUÇÕES CIENTÍFICAS	87

1 INTRODUÇÃO

Os derivados de anfetaminas são o segundo tipo de drogas mais consumidas mundialmente, perdendo somente para o *cannabis*, por serem fortes estimulantes do sistema nervoso central (SNC). O MDMA é um derivado de anfetamina muito utilizado por jovens e adultos em festas noturnas, estimando-se 19,40 milhões de usuários em todo mundo (WORLD DRUG REPORT, 2016). Também conhecido como *ecstasy*, o MDMA produz euforia, empatia, sociabilidade e autoconfiança, mas pode causar alguns efeitos adversos como tensão muscular, aumento da pressão arterial e leva seu usuário a dependência. Além disso, por provocar, ao seu usuário, um estado de alerta é muito consumido por motoristas noturnos, o que aumenta o risco de acidentes em estradas e rodovias, pois pode alterar a percepção sensorial e a atenção do motorista (XAVIER, *et al.* 2007; GARRIDO, *et al.* 2010; TADINI, *et al.* 2014).

Os perigos causados direta ou indiretamente pelo uso do *ecstasy*, traz a necessidade da determinação rápida dessa droga em comprimidos e fluidos biológicos. Para identificação de drogas ilícitas são utilizados dois métodos, os métodos de triagem e métodos confirmatórios. Os primeiros são métodos simples para identificação rápida do material apreendido, enquanto os métodos confirmatórios são utilizados para determinar com clareza a substância em questão. Para o MDMA são utilizadas técnicas colorimétricas como método de triagem, já para métodos confirmatórios de MDMA podem ser encontrados vários na literatura, porém muitos deles são complexos e dispendiosos, como os métodos cromatográficos (CLAUWAERT, *et al.* 2000; DE LETTER, *et al.* 2000; CONCEIRO, *et al.* 2005; RASMUSSEN; OLSEN; JOHANSEN, 2006; PETERS, *et al.* 2007; SCHEIDWEILER; BARNES; HUESTIS. 2008 KIKURA-HANAJIRI, *et al.* 2010; RAGO, *et al.* 2016)

Nesse contexto, os métodos eletroquímicos se mostram uma ótima alternativa por serem rápidos, simples, de baixo custo e apresentarem possibilidade de portabilidade. Alguns trabalhos encontrados na literatura já trazem esses métodos como alternativa de determinação de MDMA em, principalmente, comprimidos (MICHEL; REGE; GEORGE, 1993; BUTLER; PRAVDA; GUILBAULT. 2006; MILHAZES, *et al.* 2007; MACEDO, *et al.* 2007; FELIM, *et al.* 2007; GARRIDO, *et al.* 2010; TADINI, *et al.* 2014).

Porém muitos deles propõem eletrodos de trabalho modificados, o que demanda mais tempo e trabalho para a análise. O uso de um eletrodo de trabalho não modificado é uma opção mais prática para um método de triagem. O método desenvolvido pelo presente trabalho utiliza um eletrodo de trabalho não modificado, o BDD, o qual é estável, possui baixa corrente

de fundo e ampla janela de potencial para determinar MDMA em amostras de saliva e comprimidos (GARCIA-SEGURA; SANTOS; MARTÍNEZ-HUITLE. 2015).

Além disso, a saliva é uma amostra de fácil coleta e não invasiva que permite a determinação dessa droga em usuários. Porém é uma amostra complexa e pode variar sua composição de pessoa para pessoa, com isso, foi necessário o uso de uma técnica de extração antes da análise para determinação do MDMA. Para isso, foi utilizado o SAB, uma técnica de extração muito utilizado para purificação e extração de materiais biológicos por serem menos agressivos. Além disso, é uma técnica simples, rápida, de fácil manuseio e que não utiliza solventes orgânicos. Assim, a junção do SAB com os métodos eletroquímicos se mostrou uma forma prática para determinação da droga em saliva.

Assim, o presente trabalho propõe o desenvolvimento de um método eletroanalítico, utilizando a técnica de VPD, para determinação de MDMA em comprimidos com o uso de um eletrodo de trabalho não modificado, o BDD. Além disso, o presente estudo propõe a utilização do SAB como uma técnica de extração do MDMA em saliva juntamente com a aplicação do método eletroanalítico desenvolvido.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver um método eletroanalítico rápido e simples para identificação preliminar e determinação de MDMA em amostras de comprimidos usando o eletrodo de BDD, bem como determinar esta droga em amostras de saliva com extração por meio do SAB.

2.2 Objetivos específicos

- Estudar o comportamento eletroquímico do MDMA sobre o eletrodo BDD em função do pH e composição do eletrólito suporte por voltametria cíclica;
- Otimizar os parâmetros das técnicas de voltametria de pulso diferencial e voltametria de onda quadrada para detecção do MDMA, a fim de escolher a melhor técnica voltamétrica pulsada para determinar MDMA;
- Otimizar os parâmetros analíticos para quantificação de MDMA;
- Analisar a adição e recuperação do MDMA em amostras de comprimido pelo método eletroquímico proposto;
- Comparar os resultados obtidos pela quantificação de MDMA em comprimidos no método eletroquímico desenvolvido com métodos cromatográficos;
- Avaliar os sinais de possíveis interferentes que podem estar presentes em amostras de comprimidos;
- Estudar o comportamento eletroquímico do MDMA sobre o BDD em cada fase do sistema aquoso bifásico por voltametria cíclica;
- Otimizar os parâmetros analíticos das fases do SAB para escolha da melhor fase de análise;
- Calcular a partição do MDMA no SAB.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Considerações gerais

De acordo com o relatório mundial de drogas, 2016, (WORLD DRUG REPORT, 2016) 1 em cada 20 adultos no mundo com idade entre 15 a 64 anos usou, ao menos, uma droga em 2014, que equivale a aproximadamente 250 milhões de pessoas. Entre essas, cerca de 29 milhões sofreram transtornos relacionados ao uso de drogas nesse mesmo ano. O cenário se agrava ainda mais devido ao uso simultâneo ou sequencial de duas ou mais drogas pelos usuários, o que resultou em 207.400 mortes relacionadas à droga em 2014.

Dentro desse contexto, o *cannabis* é a droga mais consumida mundialmente (WORLD DRUG REPORT, 2016), seguidas pelas anfetaminas com 33 milhões de usuários, sendo a maioria desses homens menores de 35 anos. Outras drogas bastante consumidas mundialmente são a cocaína e os opióides, que incluem heroína, ópio e morfina (WORLD DRUG REPORT, 2016).

No Brasil, em um levantamento realizado em 2012 (LARANJEIRA, *et al.* 2014), constatou que mais de 148 milhões de brasileiros já consumiram algum tipo de droga ilícita. Neste cenário, os estimulantes são o quarto tipo de drogas mais consumidas pelos adolescentes brasileiros, seguido do *cannabis*, cocaína e solventes (LARANJEIRA, *et al.* 2014). Essas drogas são chamadas de psicotrópicas por atuarem no SNC e serem capazes de gerar dependência em seus usuários.

As drogas psicotrópicas podem ser classificadas como estimulantes, depressoras ou perturbadoras, de acordo com os efeitos provocados no SNC. As primeiras são aquelas que estimulam o SNC e deixam seu usuário mais atento, em estado de alerta, tendo como exemplos anfetaminas e cocaína. Os depressores são drogas que diminuem o efeito do SNC provocando sonolência e lentidão, como o álcool, inalantes e barbitúricos. Já as drogas perturbadoras alteram o funcionamento do SNC acarretando em mudanças de percepção da realidade, de si mesmo e das outras pessoas. O ácido lisérgico (LSD) pertence a essa última classe de psicotrópicos (NESI, 2013). É importante destacar que essa classificação mostra as formas que os psicotrópicos agem no organismo, assim uma mesma droga pode pertencer a duas classes ao mesmo tempo.

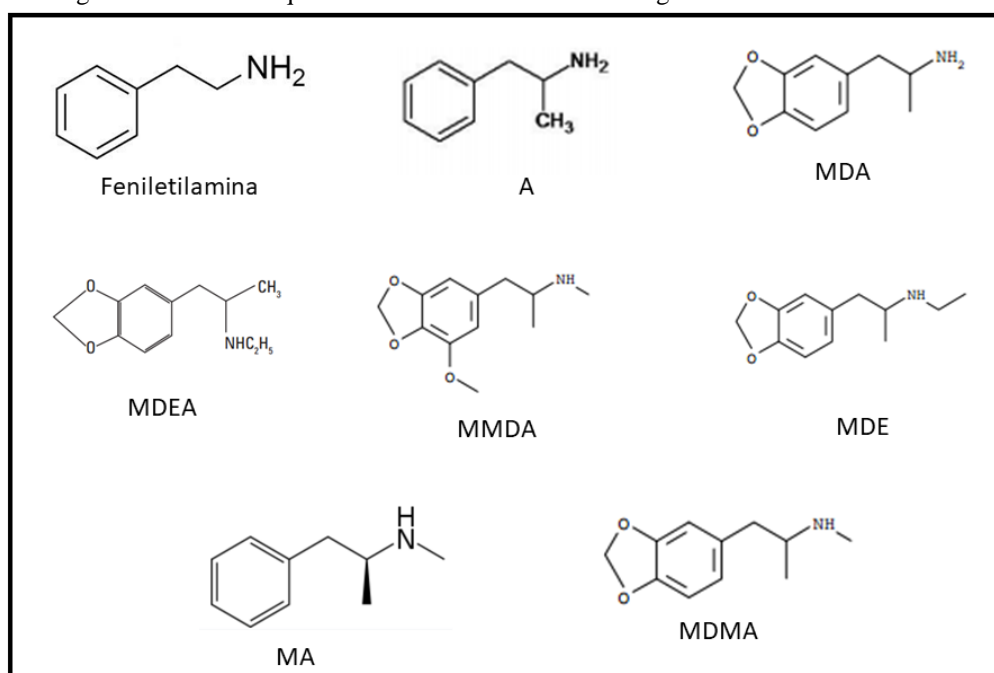
O MDMA pertence aos dos derivados de anfetaminas, classificada como estimulante do SNC, porém o MDMA também pertence à classe dos perturbadores do SNC,

devido aos efeitos provocados (BULCÃO, *et al.* 2012). Essa droga será apresentada com mais detalhes a seguir.

3.2 Ecstasy e MDMA

As drogas derivadas da anfetamina são muito utilizadas de forma recreativa por serem fortes estimulantes do SNC. Esse grupo de drogas apresentam substâncias que se assemelham a estrutura da feniletilamina, conforme mostrado na Figura 1, entre elas são encontradas a anfetamina (A), a 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA), 3,4-metilenodioxietilamfetamina (MDEA), a 5-metoxi-3,4-metilenodioxianfetamina (MMDA), a N-etil-3,4-metilenodioxianfetamina (MDE), a metanfetamina (MA) e o MDMA (XAVIER, *et al.* 2007; BULCÃO, *et al.* 2012; WORLD DRUG REPORT. 2016)

Figura 1 - Estruturas químicas da feniletilamina e das drogas derivadas da anfetamina.



Fonte: BULCÃO, *et al.* 2012

Dentro desse grupo de drogas a primeira a ser sintetizada foi a MA, em 1919, essa atingiu a popularidade principalmente na América do norte e leste e sudeste da Ásia. Essa droga pode ser inalada, fumada, injetada ou administrada por via oral. Seu uso pode provocar alucinações e delírios (BULCÃO, *et al.* 2012).

Atualmente, um dos principais derivados de anfetamina é o MDMA, utilizado em forma de comprimidos conhecido como *ecstasy*. Nos comprimidos também podem ser encontrados o MDEA e MDA, porém em menor quantidade (XAVIER, *et al.* 2007). Em 2014, 170 toneladas de anfetaminas foram apreendidas, sendo que a quantidade de *ecstasy* apanhado duplicou em relação aos anos anteriores. Estima-se cerca de 19,40 milhões de usuários em todo o mundo (WORLD DRUG REPORT, 2016).

O MDMA foi sintetizado pela primeira vez em um laboratório alemão em 1912 com o propósito de inibir o apetite, porém a substância apresentou muitos efeitos adversos. Na década de 50, o composto foi novamente utilizado, porém a fim de aumentar o ânimo de pacientes em tratamentos psicológicos e, nessa mesma época, nos EUA a droga foi testada para interesse militar. Entre os anos de 1977 a 1984 o MDMA ficou conhecido como a “penicilina da alma” devido aos efeitos provocados, e apenas em 1985 que a substância foi reconhecida como psicotrópica e capaz de gerar dependência em seus usuários (XAVIER, *et al.* 2007; TEIXEIRA, 2015).

No Brasil o *ecstasy* chegou em 1994. Sua facilidade de administração o fez mais popular em clubes noturnos e festas conhecidas como *rave*, com músicas eletrônicas, de longa duração e, geralmente, longe dos centros urbanos ou realizadas em galpões, já que não necessita de preparo e lugares reservados para o uso tais como as drogas injetáveis. Em 2003, pesquisadores analisaram o perfil de usuários de *ecstasy* em São Paulo com um total de 52 entrevistados. Os autores relataram que os usuários consomem a droga geralmente uma vez por semana e quando estão na presença de várias pessoas (ALMEIDA; SILVA, 2000; ALMEIDA; SILVA, 2003).

O mecanismo de ação do MDMA não é muito definido, mas estudos mostram alterações na liberação de serotonina e dopamina. Após o uso do composto, há uma liberação da serotonina, inibição da sua recaptação e bloqueio da monoaminoxidase A (MAO A), enzima encarregada de metabolizar a serotonina. O bloqueio da recaptação de dopamina também já foi relatado na literatura (XAVIER, *et al.* 2007; PIMENTEL, 2014).

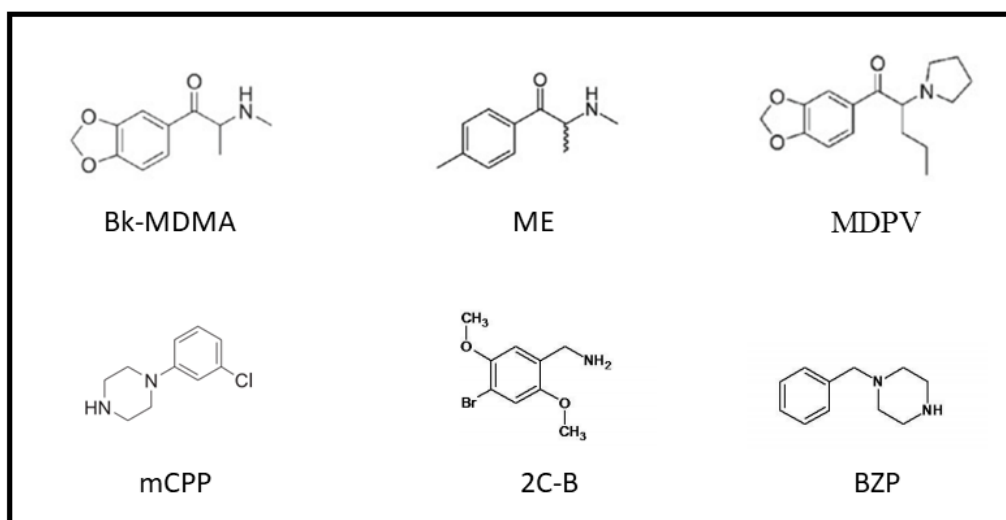
Os principais efeitos associados ao uso do *ecstasy* incluem autoconfiança, empatia, estado de vigília, comunicação, sociabilidade, euforia, fadiga, diminuição da ansiedade. Porém, pode levar a náuseas, elevação da pressão arterial, tremores, incontinência, tensão muscular e sensação de frio ou calor. Além disso, o uso prolongado dessa droga pode gerar a neurotoxicidade serotoninérgica que causa diminuição crônica dos níveis cerebrais de serotonina e diminuição da densidade dos locais de absorção serotoninérgicos nos terminais nervosos. Como consequência do exposto, o indivíduo pode desenvolver insônia, transtorno de

pânico, depressão e distúrbios de memória (MICHEL; REGE; GEORGE, 1993; XAVIER, *et al.* 2007; GARRIDO, *et al.* 2010; TADINI, *et al.* 2014).

As anfetaminas são drogas totalmente sintéticas, com isso houve o surgimento das novas substâncias psicoativas (NPS), também conhecidas como *designer drugs*, drogas sintetizadas em laboratórios clandestinos. Essas drogas apresentam efeitos semelhantes ao MDMA como euforia, agitação, alucinações e sociabilidade, e, com isso, podem ser encontradas juntamente com o MDMA, tornando possíveis interferentes. São drogas modificadas a fim de potencializar seus efeitos ou evitar efeitos adversos e torna-las legais. Um exemplo dessas drogas são os derivados de catinona, uma substância encontrada em folhas de *Catha edulis* no Oriente Médio. Os seus derivados sintéticos começaram a ser utilizados em forma de comprimidos por apresentarem efeitos semelhantes aos derivados de anfetaminas, exemplos desse grupo de drogas são o Mefedrone (ME), Metilone (bk-MDMA) e o 3,4-Metilenodioxipirovalone (MDPV), cujas formulas estruturais são mostradas na Figura 2. Seus principais efeitos são taquicardia, estado de alerta, empatia, euforia, mas pode provocar agressividade, bruxismo, tonturas, palpitações, falta de ar, entre outros (PROSSER; NELSON 2012).

Outro grupo de drogas consideradas NPS são os derivados de piperazona, essas substâncias possuem características antifúngicas, antidepressivas, antivirais e podem se comportar como agonista e antagonista da serotonina. Essas drogas são consumidas em forma de comprimidos semelhante ao *ecstasy*. Exemplo desse grupo de drogas, são 1-(3-clorofenil)piperazina (mCPP) e 1-benzilpiperazona (BZP) (Figura 2) (RODRIGUES, 2015) .

Figura 2 - Estrutura química de algumas NPS que são possíveis interferentes do MDMA.



Fonte: BULCÃO, *et al.* 2012; PROSSER; NELSON. 2012.

O 4-bromo-2,5-dimetoxifenetilamina (2C-B) é uma NPS que pertence à classe dos 2C's que levam esse nome por ter dois grupos de carbono ligados ao anel (Figura 2). Essa substância é conhecida por seus efeitos alucinógenos semelhantes ao MDMA e LSD, sendo mais potente que o MDMA e menos potente ao comparar com o LSD, porém seus efeitos adversos são mais perigosos, pois leva o seu usuário a situações de risco. Também apresentado em forma de comprimido (BULCÃO, *et al.* 2012).

Devido ao perigo apresentado por essas drogas, o desenvolvimento de métodos rápidos e simples se tornam importantes na área forense. Com isso, alguns métodos já foram desenvolvidos e são apresentados na próxima seção.

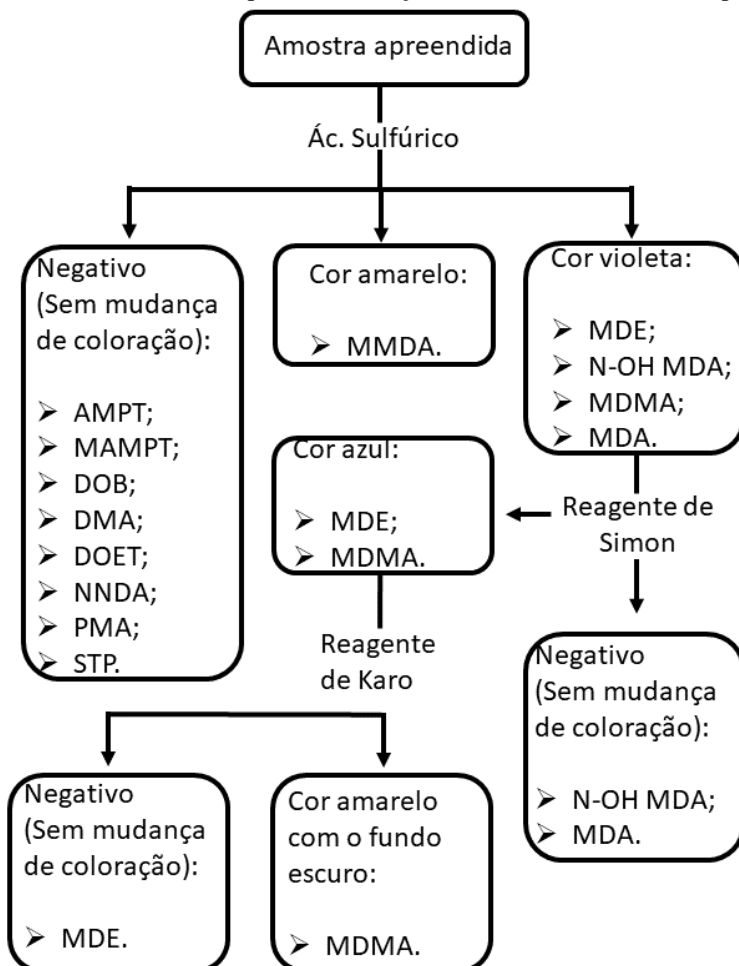
3.3 Métodos analíticos para detecção de MDMA

Alguns métodos já foram desenvolvidos para detecção de drogas ilícitas, esses métodos são divididos em dois tipos: de triagem e confirmatórios. Os métodos de triagem, também conhecidos como método *screening*, são utilizados para identificar a presença de substância ilícita no material apreendido. São métodos qualitativos, os quais também são conhecidos como métodos de identificação preliminar. As técnicas mais utilizadas na triagem de derivados de anfetaminas são os imunoensaios e colorimétricos. Um dos principais métodos para identificação de MDMA em comprimidos é o colorimétrico apresentado na Figura 3. Esse método se inicia com a adição, em uma parte do comprimido, de ácido sulfúrico concentrado, sendo que uma coloração violeta após a adição indica a presença de MDE, MDA, MMDA ou MDMA. Em seguida, um reagente, denominado Reagente de Simon, é utilizado sobre o comprimido e a coloração azul após adição é a indicação de MDMA ou MDE. Por fim, o Reagente de Karo é adicionado à outra parte do comprimido e a coloração amarelo com fundo preto após a adição é o teste final positivo para MDMA (ROMÃO, *et al.* 2011; BULCÃO, *et al.* 2012).

Apesar do método de triagem atual para o MDMA ser simples de aplicação, o mesmo ainda utiliza três reagentes e em alguns casos não identificam com clareza a substância presente no material apreendido, com isso, os testes confirmatórios são essenciais nesses casos para um melhor reconhecimento da droga em questão. Após o método de triagem, são realizados os métodos confirmatórios, também conhecidos como métodos definitivos. Tais métodos são mais complexos, porém identificam com clareza a substância presente na amostra analisada. Para o MDMA os métodos mais utilizados de confirmação são os cromatográficos

sendo a cromatografia gasosa acoplado à espectroscopia de massa (CG-MS) o mais utilizado em laboratórios forense (ROMÃO, *et al.* 2011; BULCÃO, *et al.* 2012).

Figura 3 - Teste colorimétrico para identificação de MDMA em amostras apreendidas.



Fonte: ROMÃO, *et al.* 2011; BULCÃO, *et al.* 2012.

Além disso, na literatura se encontram diversos métodos para determinação de MDMA tais como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com detecção em fluorescência (CLAUWAERT, *et al.* 2000; DE LETTER, *et al.* 2000; CONCHEIRO, *et al.* 2005), detecção em espectroscopia de massas (RAGO, *et al.* 2016; KIKURA-HANAJIRI, *et al.* 2010) e CG-MS (PETERS, *et al.* 2007; SCHEIDWEILER; BARNES; HUESTIS. 2008; RASMUSSEN; OLSEN; JOHANSEN, 2006), contudo, esses métodos são muito dispendiosos e demandam um longo período no preparo de amostra.

Diante do exposto, os métodos eletroquímicos se mostram uma alternativa para uma triagem simples e de baixo custo, como uma possibilidade de identificação mais rápida e eficiente que o método colorimétrico para o MDMA. Além disso, o método eletroquímico pode oferecer a detecção e quantificação rápida da droga nas amostras apreendidas e de saliva,

auxiliando em outras aplicações forense. Cabe destacar que, alguns estudos já são encontrados utilizando métodos eletroquímicos para avaliar o comportamento eletroquímico do MDMA e seus metabólitos utilizando o eletrodo de carbono vítreo (MILHAZES, *et al.* 2007; MACEDO, *et al.* 2007; FELIM, *et al.* 2007), além de sua detecção em comprimidos, também são utilizados fluidos biológicos para sua determinação utilizando o eletrodo de carbono vítreo sem modificação (MICHEL; REGE; GEORGE, 1993; GARRIDO, *et al.* 2010) e com modificação com curcubitúril 6 (TADINI, *et al.* 2014) e o uso de imunossensores (BUTLER; PRAVDA; GUILBAULT. 2006).

O uso de eletrodos de carbono vítreo na detecção eletroquímica muitas vezes tem o inconveniente da contaminação e passivação da superfície deste eletrodo de trabalho durante as análises, inferindo na falta de reprodutibilidade dos resultados. Como alternativa para contornar esses problemas, as modificações dos eletrodos de trabalho são realizadas, buscando também melhorar a sensibilidade e seletividade do método desenvolvido, porém os processos de modificação podem tornar o método mais tedioso e complexo para aplicação em análises de rotina, como na identificação preliminar de drogas.

Dessa forma, o uso de sensores mais simples, rápidos e reprodutíveis para detecção eletroquímica de MDMA em amostras apreendidas é importante para que os métodos eletroanalíticos sejam de fato aplicados na área forense. Neste contexto, o presente trabalho propõe o uso de um eletrodo de trabalho altamente estável e não modificado, o BDD, o qual apresenta alta estabilidade, baixa corrente de fundo, ampla janela de potencial (GARCIA-SEGURA, SANTOS; MARTÍNEZ-HUITLE. 2015) sendo suas características apresentadas a seguir.

3.4 Eletrodo de diamante dopado com boro, BDD

Em 1952 William Eversole conseguiu, pela primeira vez, produzir um diamante por um método de deposição química a vapor, conhecido como CVD (*Chemical Vapor Deposition*). O seu método se difundiu por ser uma técnica econômica e possibilitar o crescimento dos filmes em vários tamanhos e formatos, além de fácil manuseio. O diamante natural é um material isolante, assim, para conceber características semicondutoras, o material deve ser dopado com diferentes compostos. As principais substâncias utilizadas nessa dopagem são enxofre, boro, nitrogênio e lítio. Oferecer ao diamante características semicondutoras possibilitou o seu uso em várias áreas, incluído o desenvolvimento de eletrodos para aplicação eletroquímica. (DE BARROS, *et al.* 2005).

Os eletrodos de BDD apresentam alta estabilidade, baixa corrente de fundo, ampla janela de potencial, sensibilidade, alta resistência. A sensibilidade apresentada pelo eletrodo de BDD é devido sua baixa e estável corrente de fundo e ao baixo ruído apresentado em suas análises, além disso, essas características levam a alta precisão e estabilidade dos resultados adquiridos (GARCIA-SEGURA; SANTOS; MARTÍNEZ-HUITLE. 2015).

Devido a essas características o BDD é amplamente utilizado para diversos fins na área eletroquímica, como determinação de herbicidas (DUARTE, *et al.* 2017), pesticidas (WEI E FENG, 2017; STANKOVIC E KALCHER. 2016), fármacos (CHOMISTEKOVÁ, *et al.* 2016; SVORC, *et al.* 2017; FEIER, *et al.* 2017; GUEDES, *et al.* 2017) e alguns estudos já mostram sua utilização para detecção de drogas ilícitas, como o 2,5-dimetoxi-N-2-metoxibenzilfenetilaminas (25-NBOMe) (SOUZA, *et al.* 2017).

As características eletroquímicas dos eletrodos de BDD podem variar de acordo com as terminações apresentadas na sua superfície após a realização de um pré-tratamento. Esse pré-tratamento do eletrodo é muito importante, pois sua superfície pode apresentar características diferentes após o tipo de tratamento, podendo oferecer um perfil eletroquímico diferente para um mesmo analito. O pré-tratamento pode ser anódico ou catódico utilizando uma solução ácida. O tratamento catódico envolve a superfície do eletrodo com hidrogênio, o que provoca uma característica mais hidrofóbica e com alta condutividade ao eletrodo. Já o tratamento anódico envolve a superfície com oxigênio gerando baixa condutividade e características hidrofílicas (KASAHARA, *et al.* 2017).

A escolha do eletrodo de trabalho é muito importante, porém a técnica utilizada também deve ser otimizada. A voltametria cíclica (VC) é a primeira escolha para um teste de investigação, porém para quantificação de compostos as técnicas pulsadas se mostram mais apropriadas, as quais são apresentadas brevemente nas próximas seções.

3.5 Técnicas eletroquímicas

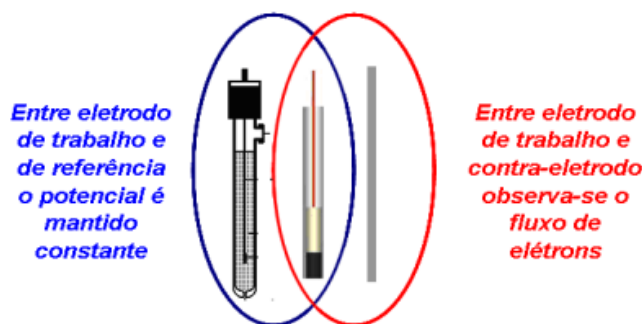
Os primeiros estudos eletroquímicos se iniciaram por volta de 1791 quando Luigi Galvani dessecava um sapo e observou que o contato de terminações nervosas do sapo com determinados metais, resultava em contrações musculares. Em 1800 Alessandro Volta uniu placas de zinco e prata por uma pasta e mergulhou em uma solução salina notando, então, um fluxo de energia. Porém somente em 1834 que Michael Faraday estabeleceu as leis estequiométricas da eletroquímica. Estudos que contribuíram para a definição de modelo atômico atual (PACHECO, *et al.* 2013).

As primeiras técnicas voltamétricas surgiram em 1922 com o desenvolvimento da polarografia. Essa técnica utiliza como eletrodo uma gota de mercúrio, na qual foi possível identificar, especificar e quantificar diferentes compostos. Atualmente, os métodos eletroquímicos são utilizados para análise de fármacos (MIRANDA, *et al.* 2012; GUEDES, *et al.* 2017), produtos alimentícios (ALI, *et al.* 2017), herbicidas (DUARTE, *et al.* 2017), cosméticos (SANTOS, 2015), identificação de drogas ilícitas (SOUZA, *et al.* 2017), entre outros fins. Essas técnicas se mostram atrativas pela simplicidade, economia, rapidez, alta sensibilidade e seletividade (PACHECO, *et al.* 2013).

Os métodos eletroanalíticos utilizam de propriedades elétricas como corrente, diferença de potencial e carga para identificação, especificação e quantificação de compostos eletroativos. A voltametria é um tipo de método eletroanalítico que mede a corrente do sistema em função do potencial aplicado. Nesse método as células estão em total polarização de concentração, ou seja, a velocidade em que ocorre a oxidação e redução depende somente da velocidade de transferência de massa do analito até o eletrodo. Assim, a corrente registrada corresponde a transferência de elétrons no processo de oxidação ou redução e sua magnitude é proporcional à concentração da espécie oxidada ou reduzida na célula eletroquímica (SKOOG, *et al.* 1979; PACHECO, *et al.* 2013).

Nessa técnica são utilizados três tipos de eletrodo, o eletrodo de referência, de trabalho e auxiliar (Figura 4).

Figura 4 - Configuração dos três eletrodos eletroquímicos, sendo da esquerda para direita desenhado um exemplo de eletrodo de referência, trabalho e auxiliar (contra-eletrodo).



Fonte: PACHECO, *et al.* 2013.

O eletrodo de trabalho pode ser constituído de mercúrio, carbono, ouro, prata entre outros vários tipos sem e com modificação da superfície. Nesse eletrodo é aplicado o potencial de acordo com a técnica utilizada e com isso, ocorre os processos de oxidação ou redução das espécies presentes na célula eletroquímica. O eletrodo auxiliar é responsável por fornecer a

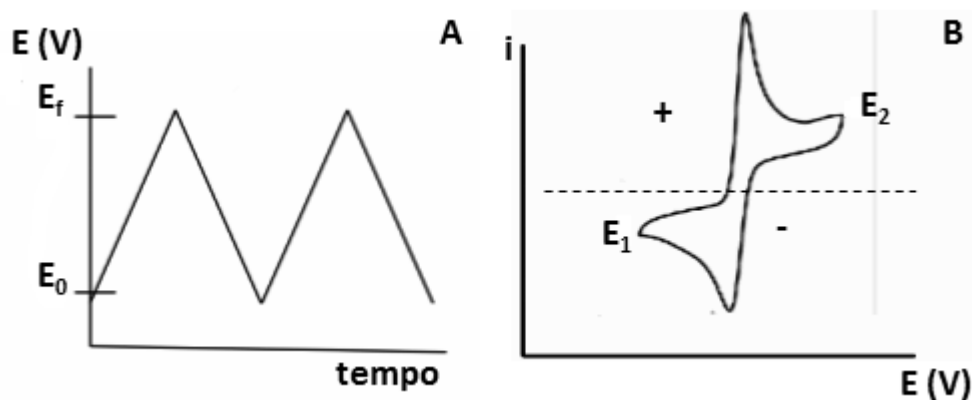
corrente necessária para manter as reações no sistema. O eletrodo de referência, então, permite o monitoramento do potencial no eletrodo de trabalho, assim, nesse eletrodo o potencial é conhecido e pode ser controlado pelos potenciostatos utilizados (SKOOG, *et al.* 1979; PACHECO, *et al.* 2013).

A voltametria apresenta alguns tipos conforme a aplicação do potencial na célula eletroquímica. Esses tipos são diferenciados a seguir.

3.5.1 Voltametria cíclica, VC

Na VC, o potencial aplicado é varrido de forma linear crescentemente e decrescentemente de acordo com o tempo, conforme mostrado na Figura 5A. De acordo com a necessidade da análise, é permitido realizar vários cíclicos consecutivos e o eletrodo de trabalho é normalmente utilizado de forma estacionária, sem agitação da solução. É uma técnica utilizada principalmente de forma qualitativa a fim de obter informação do analito a ser estudado, como por exemplo, a termodinâmica ou cinética dos processos redox (PACHECO, *et al.* 2013).

Figura 5 - A) Aplicação do potencial na VC em função do tempo. B) Exemplo de voltamograma cíclico de uma substância eletroativa.



Fonte: PACHECO, *et al.* 2013

A Figura 5A mostra a forma de aplicação do potencial em função do tempo da VC. Como observado o potencial varia de E_0 à E_f e em seguida há uma variação de forma inversa, iniciando do E_f até o E_0 . Já na Figura 5B nota-se um voltamograma cíclico de um composto sendo oxidado e reduzido reversivelmente, em que a aplicação do potencial se inicia em E_1 até E_2 e, então retorna ao ponto inicial E_1 , onde se observa uma oxidação em direção a potenciais positivos e uma redução no sentido inverso. Durante a variação do potencial, é medido a

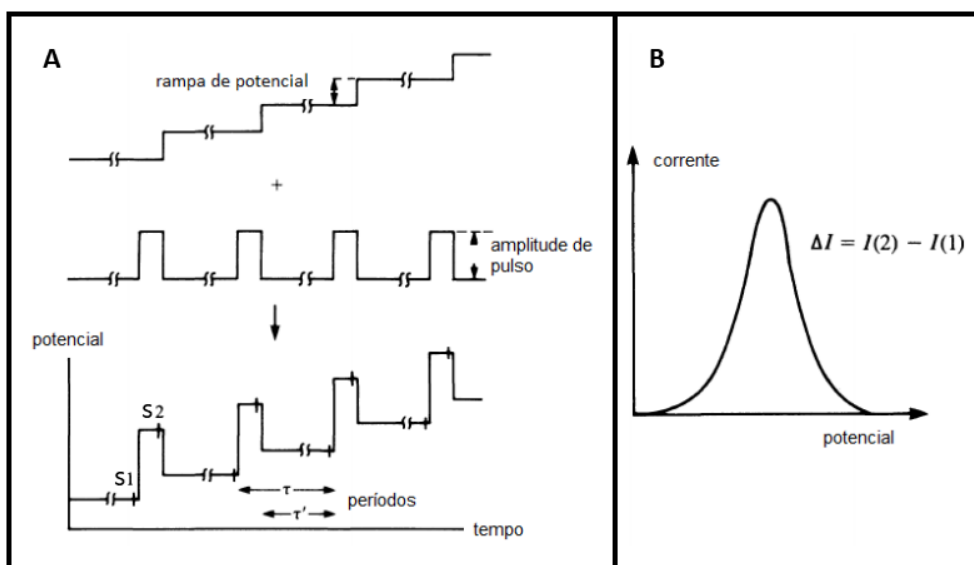
corrente do sistema. Inicialmente é observado uma corrente residual do sistema, correspondente a soma da corrente capacitiva (corrente necessária para carregar o eletrodo no potencial desejado), em seguida, a medida que o potencial aumenta, é observado um aumento da corrente em função da oxidação do analito em questão, chamada de corrente faradaica. Ao fazer a variação de potencial inversa, o mesmo comportamento é observado, porém, a mudança de corrente é devido ao processo de redução do analito (SKOOG, *et al.* 1979; PACHECO, *et al.* 2013).

Além das técnicas com aplicações de potencial de forma linear, existem técnicas que apresentam aplicações de potencial de forma pulsada, como a VPD e a voltametria de onda quadrada (VOQ), apresentadas a seguir.

3.5.2 Voltametria de pulso diferencial, VPD

As técnicas de pulso foram desenvolvidas na polarografia com o intuito de relacionar a formação e o desprendimento da gota de mercúrio para reduzir a corrente capacitiva (SKOOG, *et al.* 1979; PACHECO, *et al.* 2013). Assim, essas técnicas aplicam degraus de potenciais conforme será discutido ao longo do texto.

Figura 6 – A) Aplicação do potencial na VPD em função do tempo. B) Exemplo de voltamograma de pulso diferencial de um composto eletroativo.



Fonte: PACHECO, *et al.* 2013.

A aplicação de pulsos de potenciais com leitura da corrente antes e após o pulso, diminui a corrente capacitiva do sistema pela subtração das correntes obtidas, com isso, essas

técnicas são mais sensíveis, apresentando picos mais definidos que os obtidos pela VC. (SKOOG, *et al.* 1979; PACHECO, *et al.* 2013). Como mostrado na Figura 6A, a VPD apresenta pulsos de amplitude constante e sobrepostos a uma rampa de potencial crescente.

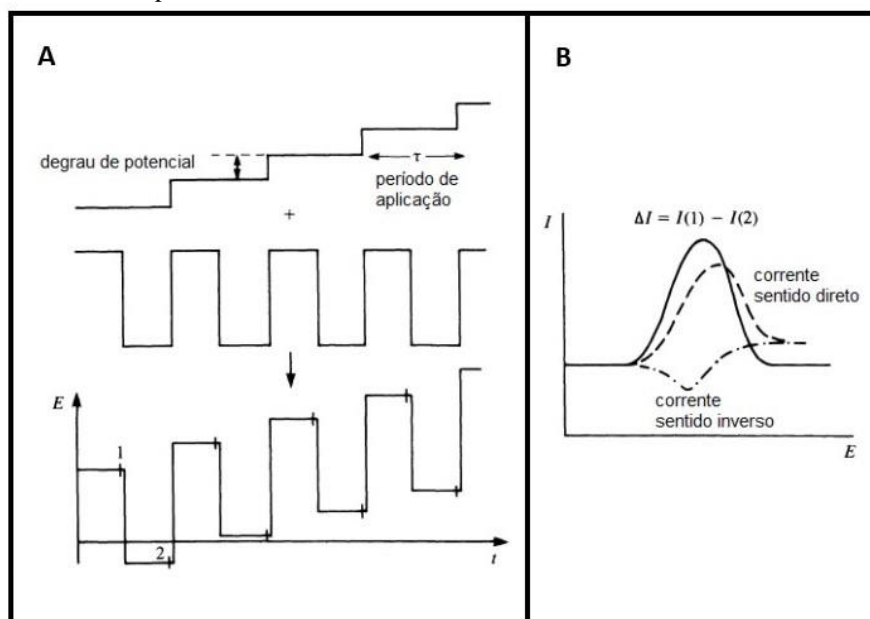
Conforme a Figura 6A, a corrente é medida antes (S_1) e após a aplicação do pulso (S_2). Assim, a primeira corrente é subtraída à segunda fornecendo a corrente resultante que é utilizada no voltamograma em função do potencial aplicado, conforme a Figura 6B. A primeira corrente medida corresponde a corrente capacitiva, enquanto a segunda se refere a soma da corrente faradaica e capacitiva. Assim, a diferença calculada das correntes de cada pulso permite uma correção da corrente capacitiva. Essa correção possibilita obtenção de limites de detecção menores ao comparar com a VC, em geral, na ordem de pelo menos dez vezes (PACHECO, *et al.* 2013).

Outro tipo de voltametria pulsada é a VOQ, apresentada a seguir.

3.5.3 Voltametria de onda quadrada, VOQ

A técnica de VOQ consiste na aplicação de um potencial em dois sentidos no eletrodo de trabalho, positivo e negativo, na forma de onda simétrica de amplitude ΔE_p , as quais são sobrepostas a variação de potencial em forma de escada (Figura 7A).

Figura 7 - A) Aplicação do potencial na VOQ em função do tempo. B) Exemplo de voltamograma de onda quadrada de um composto eletroativo.



Fonte: PACHECO, *et al.* 2013.

A corrente, então é medida ao final do primeiro pulso com direção de pulso igual a direção de varredura e a outra medição é feita ao final do pulso com direção inversa à varredura. Assim, é possível diminuir os efeitos da corrente capacitiva, igualmente feito pela VPD e obter também maior sensibilidade para processos reversíveis, uma vez que as correntes direta e indireta são somadas e apresentadas no voltamograma da VOQ.

A Figura 7B apresenta o voltamograma resultante da onda quadrada em sistemas quase-reversíveis onde é possível notar uma corrente maior na oxidação e uma menor para redução do eventual produto gerado. As correntes medidas nas direções diretas são referentes as reações anódicas, enquanto as correntes medidas em direções inversas são referentes as reações catódicas. A corrente apresentada consiste na diferença entre as correntes medidas versus a rampa de potencial aplicado na análise. A soma é realizada uma vez que para os processos catódicos as correntes geradas são opostas e a diferenciação das correntes são no final uma somatória.

As técnicas eletroquímicas são simples e rápidas, além disso são consideradas seletivas por identificarem somente substâncias eletroativas. Porém ao trabalhar com amostras complexas, como amostras biológicas, pode trazer a necessidade de técnicas de extração ou purificação. No presente estudo foi utilizado o SAB para extração no MDMA em amostras de saliva. Essa técnica será apresentada em seguida.

3.6 Sistema aquoso bifásico, SAB

Os SABs são sistemas de duas fases no qual a substância mais abundante é a água. Em 1896, Beijerinck descobriu que soluções aquosas de gelatina e ágar ou gelatina e amido solúvel, se misturavam formando uma solução turva e com o tempo se separavam, quando deixadas em repouso, formando duas soluções límpidas. Alguns anos depois Ostwald e Hertel estudaram sistemas formados por diferentes amidos e observaram que cada amido apresentava um diagrama de fases diferente. Já na década de 40 Dobry e Boyer-Kawenoki estudaram a miscibilidade de diferentes pares de polímeros para formação de sistemas, e na década seguinte, foi descoberta o potencial desses sistemas para purificação/partição de materiais biológicos. Como esses sistemas são formados principalmente por água, suas fases formam um ambiente propício para a solubilização de macromoléculas, mantendo suas propriedades; diferentemente dos solventes orgânicos formadores dos sistemas de extração líquido-líquido tradicional (SILVA E LOH, 2006).

A Química verde é um movimento iniciado nos anos 90 que compreende no uso de uma série de princípios que reduz ou elimina o uso de substâncias nocivas a fim de diminuir os impactos ambientais causados por esse tipo de substância (ZUIN, 2013). Devido à sua composição, a Química Verde considera o SAB uma “técnica limpa” de extração e pré-concentração. Além disso, o SAB possui outras vantagens como simplicidade, rapidez, baixo-custo e possibilidade de reciclagem dos seus componentes (RODRIGUES, *et al.* 2010).

Devido a essas vantagens, muitos estudos estão sendo realizados utilizando o SAB para extração/purificação de substâncias como o níquel (SANTOS, 2014), ácido monometilarsônico (CARVALHO, 2017), antocianinas retiradas do açaí (SIQUEIRA, 2018), enzimas (DA SILVA, 2014; CARVALHO, *et al.* 2016; TEIXEIRA, 2017), entre outros. Além disso, outros trabalhos mostram o SAB como uma “alternativa verde”, mais ecológica, para preparo de amostras antes de análises. Em 2005, Li e colaboradores utilizaram o SAB como uma ótima alternativa de pré-tratamento para análises de alcaloides em extrato bruto de *P. papaveris* (LI, *et al.* 2005), e em 2010 Freire e colaboradores também mostraram que o SAB é uma alternativa mais rápida e ecológica para determinação de cafeína e nicotina em amostras de urina (FREIRE, *et al.* 2010). Já em 2010, Rodrigues *et al* desenvolveram um método para detecção de fenóis em amostras de água utilizando o SAB como preparo de amostra (RODRIGUES, *et al.* 2010). A técnica de detecção foi desenvolvida por Nagaraj *et al* (1993) (NAGARAJ, *et al.* 1993) e posteriormente aprimorada por Kang *et al* em 2000 (KANG, *et al.* 2000), porém o método ainda apresentava desvantagens como alguns interferentes e baixa sensibilidade, com o uso do SAB antes das análises levou a um aumento de sensibilidade e da faixa linear, devido a uma pré-concentração do analito na fase superior do sistema utilizado e eliminação dos interferentes, além da redução de compostos orgânicos utilizados.

Assim, o presente estudo utiliza o SAB para extração de MDMA em amostras de saliva humana para posterior detecção eletroquímica. Vale ressaltar que, até o presente momento, essa aplicação do SAB ainda não foi explorada, apresentando um grande potencial de aplicação para métodos eletroanalíticos.

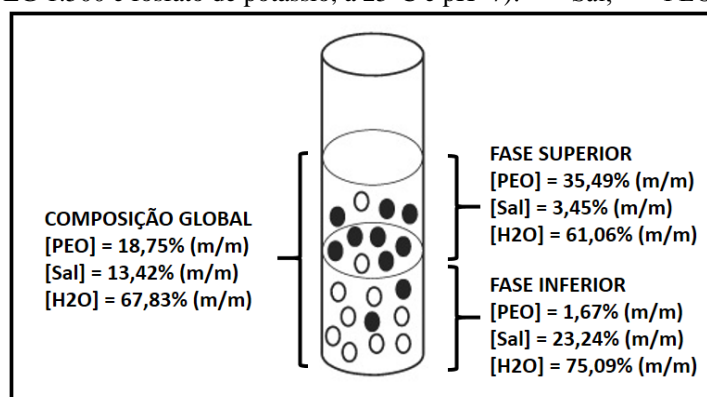
3.6.1 Fundamentos do SAB

O SAB é uma técnica de extração/purificação líquido-líquido que tem como base a imiscibilidade de substâncias químicas que, em determinadas faixas de concentração, temperatura e pressão, se separam formando duas fases de composições diferentes. As interações intermoleculares dos constituintes do sistema são responsáveis pela formação das

duas fases e pelas propriedades físico-químicas do sistema, tais como a distribuição dos diferentes componentes no sistema, volumes de cada fase e a diferença de potencial elétrico entre elas (SILVA, *et al.* 2006; ALVARENGA, *et al.* 2015).

Esses sistemas podem ser formados pela mistura de soluções aquosas de dois tipos de polímero, um surfactante e um polímero, um surfactante e um sal, dois tipos de sais ou por um polímero e um sal.

Figura 8 - Exemplo da composição global de um SAB e de cada uma das fases (Composição química associado ao sistema PEG 1.500 e fosfato de potássio, a 25°C e pH=7). ○ = Sal; ● = PEO.



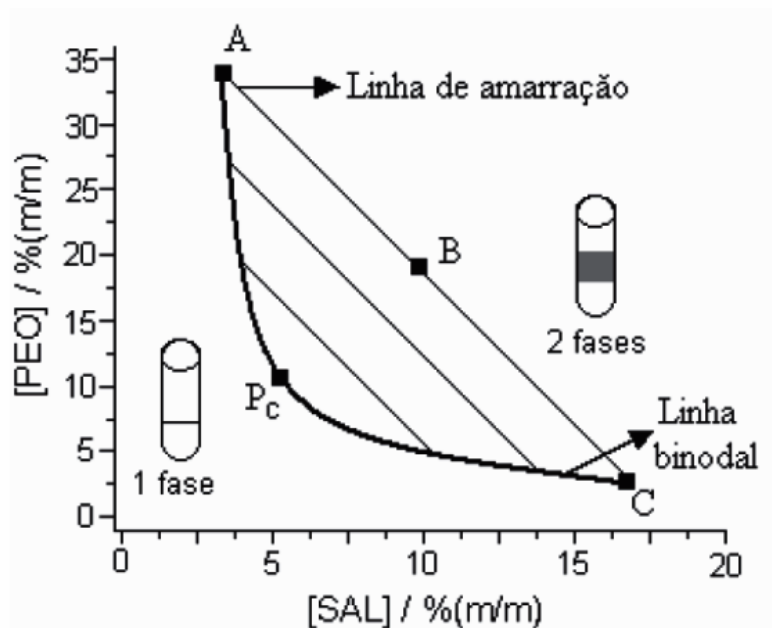
Fonte: SILVA, *et al.* 2006.

O sistema formado por um polímero e um sal (Figura 8), por exemplo, apresenta uma determinada concentração global, geralmente definida por porcentagem massa/massa (%m/m), e ao se separarem, uma das fases se mostra rica em polímero e pobre de sal e a outra fase rica em sal e pobre em polímero, conforme pode ser observado a Figura 8 (SILVA *et al.* 2006). O componente majoritário em ambas as fases é a água.

Para representar a composição do sistema, a uma determinada temperatura e pressão, um diagrama de fases é construído, como mostrado na Figura 9. No diagrama o eixo da abscissa corresponde a concentração do sal que constitui o sistema e o eixo da ordenada representa a concentração do polímero utilizado na formação do sistema (SILVA E LOH, 2006). A água pode ser encontrada por diferença de massas.

Como é possível observar na Figura 9, uma linha, conhecida como binodal (LB), divide o diagrama. Assim, os pontos abaixo da LB formam sistemas com apenas uma fase, já os pontos acima dessa formam sistemas com duas fases. A LB pode variar conforme a variação de temperatura, pH, massa molar do polímero e a natureza do sal. O ponto crítico, representado por P_c , é um ponto hipotético na qual as propriedades termodinâmicas das fases são idênticas, sendo o volume e a concentração das duas fases iguais (JÚNIOR, 2006; SILVA *et al.* 2006; MARTINS, *et al.* 2008).

Figura 9 – Exemplo de um diagrama de fases retangular de um SAB formado por um polímero e um sal.



Fonte: SILVA, *et al.* 2006.

No diagrama (Figura 9) é possível identificar as linhas de amarração (LA), apresentada na Figura 9 como linha ABC, que ligam pontos no diagrama que representam a composição das duas fases em equilíbrio, passando pelo ponto de composição global. Assim qualquer ponto dentro da LA apresentará FS com propriedades termodinâmicas intensivas iguais, como densidade, volume molar por exemplo, mudando somente as propriedades extensivas, como volume e massa; o mesmo acontece com as FI. No diagrama o ponto B fornece a composição global do sistema, enquanto o ponto A representa a composição de polímero e sal na FS e o ponto C a composição da FI (SILVA; LOH, 2006; SILVA, *et al.* 2006).

Outra informação importante representada pelo diagrama de fases é o comprimento da linha de amarração (CLA), que pode ser calculada de acordo com a equação 1.

$$CLA = \left[(C_{Pol}^{Sup} - C_{Pol}^{Inf})^2 + (C_{Sal}^{Sup} - C_{Sal}^{Inf})^2 \right]^{1/2} \quad (1)$$

Onde C_{Pol}^{Sup} e C_{Pol}^{Inf} são as concentrações do polímero na FS e FI, respectivamente e C_{Sal}^{Sup} e C_{Sal}^{Inf} são as concentrações do sal nas fases. Esse parâmetro mede a diferença das propriedades intensivas entre as fases. Assim quanto maior o valor da CLA maior a diferença da concentração de polímero e sal em cada fase, o que melhora a eficiência de extração/partição do sistema (SILVA; LOH, 2006; DE BRITO. 2007).

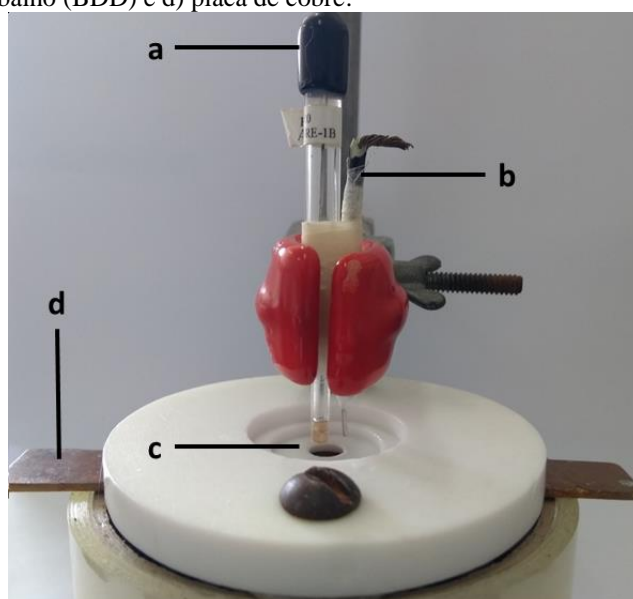
O presente estudo utilizou o SAB para extração do MDMA em amostras de saliva para posterior detecção voltamétrica. Para isso, foi utilizado o sistema caracterizado por Martins *et al* (2008), composto por PEG 1500 e sulfato de lítio. A CLA escolhida para desenvolvimento do método foi a CLA 3, na qual utiliza PEG 1500 à 50,31% e sulfato de lítio à 22,57% para preparo do SAB.

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Instrumentação

Para a realização das análises foi utilizado o potenciostato AUTOLAB, modelo μ AutoLab tipo III conectado a um computador com o software GPES 4.9. As análises foram realizadas em uma célula eletroquímica, como mostrado na Figura 10.

Figura 10 - Célula eletroquímica utilizada nas análises sendo a) eletrodo de referência, b) eletrodo auxiliar, c) eletrodo de trabalho (BDD) e d) placa de cobre.



Um eletrodo de Ag/AgCl (KCl saturado) (Figura 10a) feito por ponteira foi utilizado como eletrodo de referência (PEDROTTI; AGNES, GUTZ, 1996), como eletrodo auxiliar foi utilizado um fio de platina (Figura 10b) e como eletrodo de trabalho o BDD (NeoCoat SA, La Chaux-de-Fonds, Suíça) (Figura 10c), sendo a dopagem de 8.000 ppm e a área geométrica do eletrodo de trabalho de $0,13\text{cm}^2$ limitados por um O-ring. Uma placa de cobre foi utilizada para contato elétrico do eletrodo de BDD (Figura 10d). Para as análises foram utilizadas soluções de aproximadamente 1 mL.

4.2 Reagentes e soluções

As soluções foram preparadas utilizando água deionizada obtida pelo sistema de purificação Mili-Q plus com resistividade igual ou superior a $18,2\text{ M}\Omega\text{ cm}$. Os reagentes

utilizados foram todos de grau analítico. Para o estudo de pH foram utilizadas soluções de tampão BR de pH de 2 a 12, conforme descrito por Fatibello-Filho (2016) para obtenção de força iônica 0,1 M, utilizando ácido bórico (Vetec®), ácido fosfórico (Proquímica®), ácido acético (Proquímica®), hidróxido de sódio (Alphatec®) e cloreto de potássio (Vetec®). Para o tratamento do eletrodo de BDD foi utilizado ácido sulfúrico 0,5 mol L⁻¹ (Dinâmica®). Para as demais soluções foram utilizados também o Bicarbonato de potássio (Synth®), Sulfato de Lítio (Dinâmica®), Polietilenoglicol 1500 (Synth®), Acetonitrila (Dinâmica®) e Acetato de amônio (Dinâmica®), Ácido úrico (AU) (Vetec®) e Ácido ascórbico (AA) (Vetec®).

Os padrões de MDMA, A, MA, MDEA, MDPV, ME, bk-MDMA, mCPP, BZP e 2C-B (todos da Lipomed AG®) foram cedidos pela Polícia Civil do Distrito Federal. As soluções estoque dos padrões foram diluídos primeiramente em metanol. Para as análises eletroquímicas as soluções estoque foram diluídas diretamente nos eletrólitos estudados. As amostras de comprimidos do *ecstasy* foram cedidas pela Polícia Civil do Distrito Federal e de Minas Geras. Os comprimidos foram macerados e diluídos na proporção de um comprimido por mililitro de metanol.

As análises em amostras naturais de saliva foram coletadas em um paciente saudável e voluntário. Para isso, utilizou o Salivette® para coleta (Figura 11). Assim, o paciente lavou a boca com bochechos leves e, utilizando uma luva, colocou o algodão (Figura 11B) na boca e deixou por 2 min. O algodão foi então, retornado para o tubo presente no Salivette® e fechado. O Salivette® foi, por fim, centrifugado a 2.800 rpm por 20 min.

Figura 11 - Salivette® A) Tubo contendo os componentes do kit. B) Tampa do kit, algodão para coleta, tubo utilizado para coleta da saliva e tubo no qual fica armazenado a saliva coletada após centrifugação.



4.3 Detecção eletroquímica

Primeiramente, foi estudado o comportamento eletroquímico do MDMA em função do pH por VC em pH de 2 a 12 utilizando o tampão BR. Com o pH otimizado, outros meios

foram analisados como o tampão borato 0,1 mol L⁻¹ em pH 9,0 e tampão bicarbonato 0,1 mol L⁻¹ em pH 10,0 para escolha do melhor eletrólito.

Para a utilização do eletrodo de BDD é importante realizar um pré-tratamento em sua superfície com uma solução ácida. Os tratamentos podem ser catódico quando aplicamos, primeiramente, uma corrente de 0,001 A por 120 s e, posteriormente, uma corrente de -0,03 A por 360 s, ou um tratamento anódico quando se aplica uma corrente de -0,03 A por 120 s e em seguida uma corrente de 0,001 A por 360 s (SALAZAR-BANDA *et al.* 2010). Para a escolha das melhores condições eletroquímicas foram levados em consideração o menor potencial de pico de oxidação e maior corrente de pico deste processo anódico do MDMA. Todas essas análises foram realizadas com a solução padrão do MDMA.

4.4 Otimização dos parâmetros da VPD e VOQ

O estudo de melhor técnica para detecção de MDMA foi realizada por comparação entre a VDP e VOQ, as quais tiveram todos os parâmetros previamente otimizadas. Assim, para a VPD foi realizado análises com o MDMA 132 µmol L⁻¹ variando a velocidade de varredura de 5 em 5 mV s⁻¹, iniciando em 10 mV s⁻¹ até 50 mV s⁻¹ em um estudo univariado, no qual a amplitude manteve-se constante. Em seguida, a amplitude foi otimizada variando de 10 em 10 mV, iniciando em 10 até 100 mV, tendo mantido constante o valor de velocidade otimizado anteriormente. Para escolha dos parâmetros foi calculado a razão entre a corrente de pico e a largura de meia altura do mesmo, escolhendo a que obtivesse melhor resultado. Essa relação foi realizada devido a corrente de pico indicar diretamente a sensibilidade da técnica e largura da meia altura indiretamente a seletividade, uma vez que picos mais largos podem apresentar algumas sobreposições de sinais de interferentes.

Seguindo o mesmo raciocínio de escolha, os parâmetros da VOQ foram otimizados utilizando uma solução de MDMA na mesma concentração. O primeiro parâmetro otimizado foi a escada de potencial, variando de 1 mV à 15 mV, em seguida a amplitude foi avaliada entre 10 a 100 mV e, por fim, otimizou-se a frequência de 10 Hz à 100 Hz.

As duas técnicas apresentaram bons resultados, por isso, foi realizado o teste de repetibilidade, em cada uma das técnicas nas condições otimizadas e a técnica com melhores resultados de DPR foi escolhida.

4.5 Avaliação dos parâmetros analíticos

4.5.1 Análise de repetibilidade e reprodutibilidade

Para avaliar a precisão do método foi realizado um estudo de repetibilidade por meio de dez análises consecutivas do padrão de MDMA a $132 \mu\text{mol L}^{-1}$. O desvio padrão relativo (DPR) das análises foi calculado conforme a Equação 2.

$$DPR = \frac{s \times 100}{\bar{x}} \quad (2)$$

Sendo s o desvio padrão e \bar{x} é a média das correntes de pico apresentadas em cada análise.

Estudos de repetibilidade também foram realizados em baixas e altas concentrações do MDMA, 6,0 e $1000 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O DPR também foi calculado dos resultados obtidos conforme a equação 2.

Para um estudo de reprodutibilidade foram realizadas análises da amostra de *ecstasy* variando o operador, eletrodo de trabalho e a célula utilizada. Análises inter e intra dias também foram realizadas. Para cada parâmetro variado foi calculado o DPR das correntes de pico conforme descrito anteriormente.

4.5.2 Estudo de linearidade do método

A faixa linear foi definida a partir das correntes de pico apresentadas nas análises de MDMA em concentrações de $1,06 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $422,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ pela técnica otimizada. O LOD foi calculado de acordo com a equação 3 abaixo (SKOOG, *et al.* 1979).

$$LOD = \frac{3 \times s_b}{m} \quad (3)$$

Sendo s_b o desvio padrão do branco (a partir das correntes apresentadas no potencial de pico do MDMA) e m o coeficiente angular da regressão obtida do estudo da faixa linear.

4.6 Teste de adição e recuperação em amostras de comprimido

Estudos de adição e recuperação foram realizados usando curvas de calibração com método de adição padrão. Para esse estudo foram preparadas soluções de padrão de MDMA em concentrações crescentes contendo uma quantidade fixa do comprimido de *ecstasy* em cada solução. Cada uma das soluções foi analisada e, a partir das correntes de pico observadas, foi calculado uma regressão linear, sendo determinada o valor da concentração e MDMA na amostra. Em seguida foram preparadas soluções com a mesma composição dos pontos da curva analítica preparada anteriormente, porém com uma quantidade conhecida a mais do padrão de MDMA em cada solução. Novamente, o valor da concentração e MDMA na amostra foi determinado e a diferença entre os valores foi calculada para se obter a porcentagem de recuperação.

4.7 Teste de interferentes em amostras de comprimidos

A análise de possíveis interferentes foi investigada baseando em algumas drogas, classe dos NPS, similares ao MDMA, que podem também estar presentes em comprimidos. O primeiro grupo de drogas analisadas foram dos derivados de anfetamina, entre eles a A, MA e MDEA. Outra classe de drogas pesquisadas como interferentes foram os derivados de catinona, como o ME, bk-MDMA e o MDPV. O mCPP e o BZP derivados de piperazona também foram analisados. Por fim, foi analisada a interferência do composto 2C-B que também é um composto encontrado em forma de comprimido. Para as análises foram preparadas soluções de cada composto a $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ no eletrólito otimizado e analisadas na técnica otimizada para verificar o comportamento eletroquímico de cada um dos interferentes em relação ao MDMA.

4.8 Comparação com o método proposto

Conforme já mencionado, na literatura são encontrados vários métodos de confirmação para análise de MDMA em comprimidos, principalmente métodos cromatográficos. Assim, para comparação do método proposto foi feita uma análise do MDMA por CLAE com detecção em UV, de acordo com Lim, 2003. Para as análises foi utilizado como fase móvel acetato de amônio/acetonitrila (10:90), o comprimento de onda analisado foi 210 nm, fluxo de $1,5 \text{ ml min}^{-1}$ e a coluna HPLC Nucleodur 100-3 C18, EC 100x4.6 mm (Macherey-Nagel, Alemanha). Para isso foi preparado uma curva analítica, e em seguida foi feita uma

análise, em triplicata, da amostra de *ecstasy*. Os resultados foram utilizados para comparação dos métodos e foram utilizados o teste F e teste *t de Student*.

O teste *t de Student*, também conhecido como t-pareado, é um teste para comparação de duas médias experimentais para uma mesma amostra. Quando a comparação é feita entre métodos com mesmo número de análises e variância diferente, t-pareado é calculado pela Equação 4 (SKOOG, *et al.* 1979).

$$t = \frac{\bar{x}_1 + \bar{x}_2}{S_{\bar{x}_1; \bar{x}_2} \times \sqrt{\frac{2}{n}}} \quad (4)$$

Onde \bar{x} é a média das medidas, n é o número de medidas realizadas e $S_{\bar{x}_1; \bar{x}_2}$ é calculado pela Equação 5.

$$S_{\bar{x}_1; \bar{x}_2} = \sqrt{\frac{s_1^2 + s_2^2}{2}} \quad (5)$$

Onde s é o desvio padrão dos resultados obtidos. Por fim, o t-pareado calculado foi comparado com o t tabelado.

Já o teste F é um teste utilizado para comparar a precisão dos dois métodos. Assim, o F pode ser calculado conforme a Equação 6 (SKOOG, *et al.* 1979).

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (6)$$

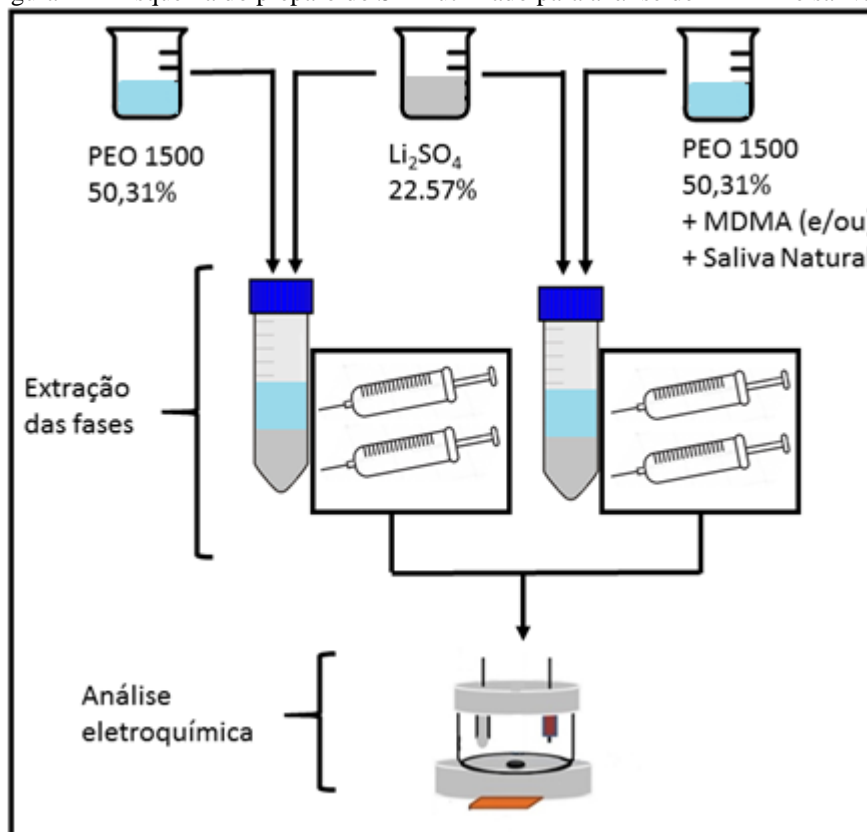
Onde s é o desvio padrão das medidas realizadas em cada método. Em seguida, o valor F calculado foi comparado ao F tabelado, considerando o Nível de confiança de 95% para os dois testes.

4.9 Sistema aquoso bifásico

Para a análise do MDMA em saliva foi utilizado o SAB constituído por PEG 1500 e sulfato de lítio. Para a formação do sistema foi primeiramente preparado as soluções de PEG

1500 a 50,31% (m/m) e sulfato de lítio a 22,57% (m/m) (MARTINS, *et al.* 2008) separadamente, em seguida o sistema foi montado com 1 g da solução de polímero e 1 g da solução de sal em um eppendorf. O sistema, então, foi agitado para mistura das soluções e formação das fases. Um esquema do preparo do SAB está apresentado na Figura 12.

Figura 12 – Esquema do preparo do SAB utilizado para análise de MDMA e saliva.



Para uma maior praticidade do método, as próprias fases do SAB foram utilizadas como eletrólito. Com isso, primeiramente foi realizado um estudo do perfil eletroquímico do MDMA em cada uma das fases do sistema e em seguida foi estudado os parâmetros analíticos como repetibilidade e linearidade de cada uma das fases. Esse estudo é importante para a escolha da melhor fase a ser utilizada para identificação do MDMA nas amostras de saliva. Para esses estudos o SAB foi preparado conforme mostrado na Figura 12 e após a separação e coleta das fases, foi feita a contaminação de cada uma delas com uma solução padrão de MDMA para que essa se encontrasse em uma concentração de $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ ou na concentração desejada para o estudo de linearidade. Os estudos de repetibilidade e linearidade foram realizados conforme apresentado na seção 4.5.

Para a realização dos estudos utilizando as amostras de saliva, primeiramente, foram realizadas coletas das amostras pelo Salivette®. O estudo do comportamento eletroquímico da saliva em cada uma das fases do sistema foi, então, executado de forma semelhante ao realizado com o MDMA, porém a saliva foi diluída três vezes em cada uma das fases.

De acordo com Lee e Compton (2015) um dos principais constituintes da saliva humana são o AA e AU (LEE; COMPTON, 2015). Assim, um estudo de interferentes foi realizado utilizando soluções dos ácidos em questão e do MDMA a $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ em cada uma das fases do sistema e analisando o comportamento eletroquímico dos interferentes em relação ao MDMA em cada meio.

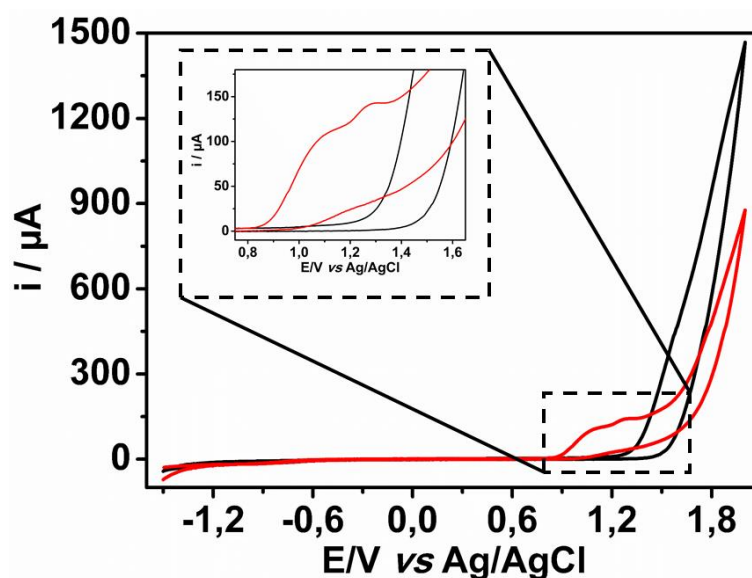
Para os estudos de partição do MDMA na presença e ausência da saliva no SAB foram realizadas contaminando o sistema no início do seu preparo, conforme apresentado na Figura 12. As soluções de MDMA e as amostras de saliva foram adicionadas no preparo da solução de PEG 1500 enquanto a solução de sal foi preparada normalmente. Em seguida o sistema foi montado, agitado para formação das fases e partição do MDMA e/ou saliva em cada uma das fases. Após a separação total das fases, essas foram coletadas e analisadas. Para cada sistema utilizando saliva foi realizado uma diluição de três vezes da amostra de saliva. Já para as análises de partição do MDMA foram adicionadas quantidades fixas de MDMA para que a concentração alcançasse $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ de MDMA no sistema.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Comportamento eletroquímico do MDMA

Primeiramente foi avaliado o comportamento eletroquímico do MDMA sob o eletrodo de BDD em tampão BR pH 10 com força iônica 0,1 M. Na Figura 13 é possível observar um voltamograma cíclico do analito em concentração $150 \mu\text{mol L}^{-1}$ sob o eletrodo de BDD após o tratamento catódico.

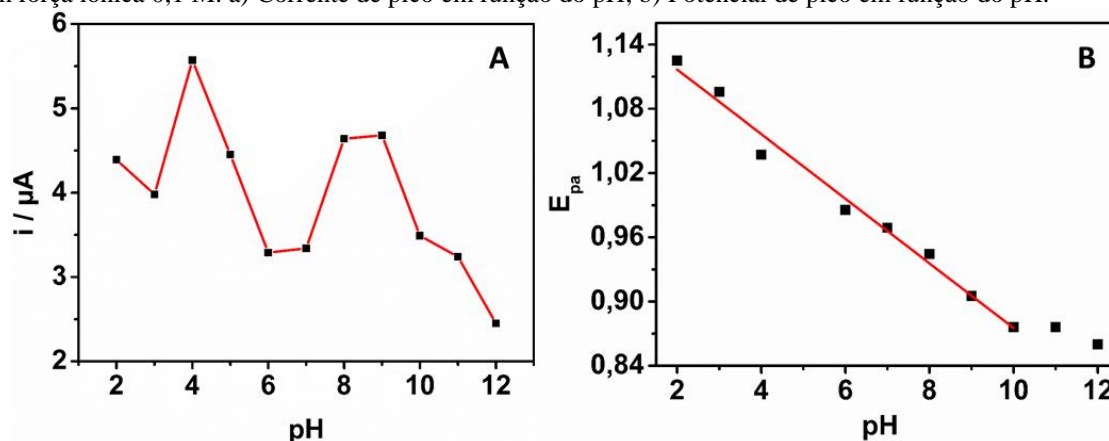
Figura 13 - Voltamograma cíclico do tampão BR pH 10 de força iônica 0,1 M (linha preta) e do MDMA $150 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão BR pH 10 de força iônica 0,1 M (linha vermelha) a 50 mV s^{-1} sob o eletrodo de BDD.



Como observado na Figura 13, o MDMA apresentou dois processos de oxidação sob o eletrodo de BDD, sendo o primeiro no potencial +0,93 V e o segundo no potencial +1,24 V. Processos catódicos não foram observados, mesmo com a ampla janela de potencial oferecida pelo eletrodo de trabalho, o que indica que os processos de oxidação do MDMA são irreversíveis. Com isso, foi realizado um estudo de pH utilizando o tampão BR, como apresentado nas Figuras 14 e 15.

Conforme mostrado na Figura 14, o primeiro processo de oxidação foi observado a partir do pH 2, e se mostrou dependente do pH. Em relação à corrente, é possível notar na Figura 14A, que o MDMA não segue um perfil único, apresentando correntes de pico maiores em pH 4, 8 e 9 e em pHs altos, como 10, 11 e 12, as correntes se mostram menores.

Figura 14 – Resultados do estudo de pH do primeiro pico do MDMA 132 $\mu\text{mol L}^{-1}$ no tampão BR com força iônica 0,1 M. a) Corrente de pico em função do pH; b) Potencial de pico em função do pH.



Em relação ao potencial (Figura 14B), há uma diminuição do potencial de pico (E_p) em função do aumento de pH, sendo o pH 10 com o menor valor de potencial. Em valores de pH maiores que 10 foi notado uma mudança de comportamento, observando uma leve estabilização do potencial de pico, isso pode ser devido ao pK_a 10,14 (PORTO, et al. 2014).

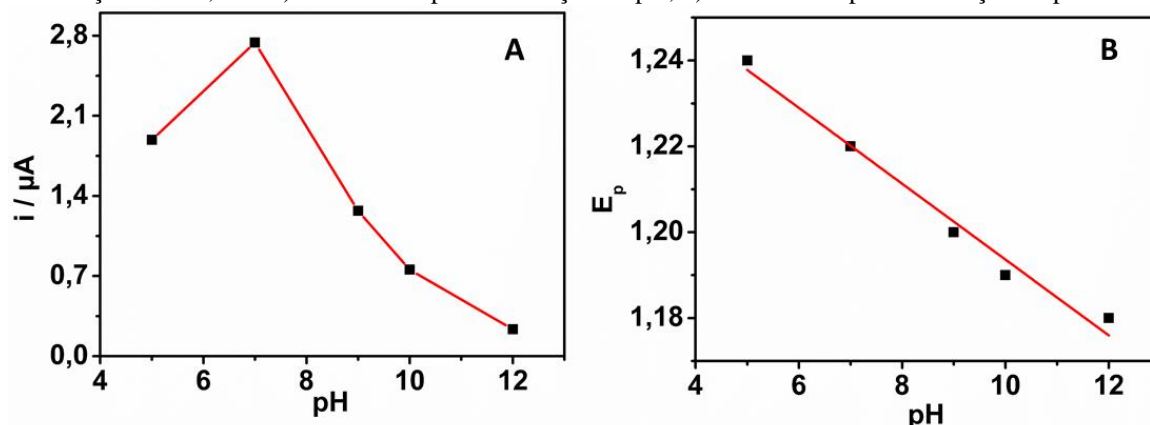
A relação potencial/pH do primeiro pico anódico do MDMA é linear e a equação dessa regressão é apresentada na Equação 7:

$$E_{pa}(V) = 1,18(\pm 0,01) - 0,03 (\pm 0,01) \cdot pH \quad (7)$$

Conforme a equação apresentada, a inclinação obtida foi de 30 mV, o qual está próximo do valor teórico de 29,6 mV, indicando que o número de elétrons envolvido nesse processo é o dobro do número de prótons. O mesmo comportamento foi observado por Garrido e colaboradores (2010) usando eletrodo de carbono vítreo em meio tampão fosfato pH 7.

O segundo processo de oxidação foi somente observado a partir do pH 5. Conforme observado na Figura 15, o pH 7 apresenta maior corrente de pico em relação aos demais e em seguida, nota-se uma queda da corrente em meios mais básicos.

Figura 15 - Resultados do estudo de pH do segundo pico do MDMA $132 \mu\text{mol L}^{-1}$ no tampão BR com força iônica 0,1 M. a) Corrente de pico em função do pH; b) Potencial de pico em função do pH.



O potencial de oxidação do segundo processo de oxidação diminui à medida que o valor de pH aumenta, conforme mostrado na Figura 15B.

Assim, é possível notar a dependência desse processo de oxidação à variação de pH, porém não é possível identificar a relação de elétrons e prótons envolvidos no processo usando a equação (8) da reta obtida pela regressão.

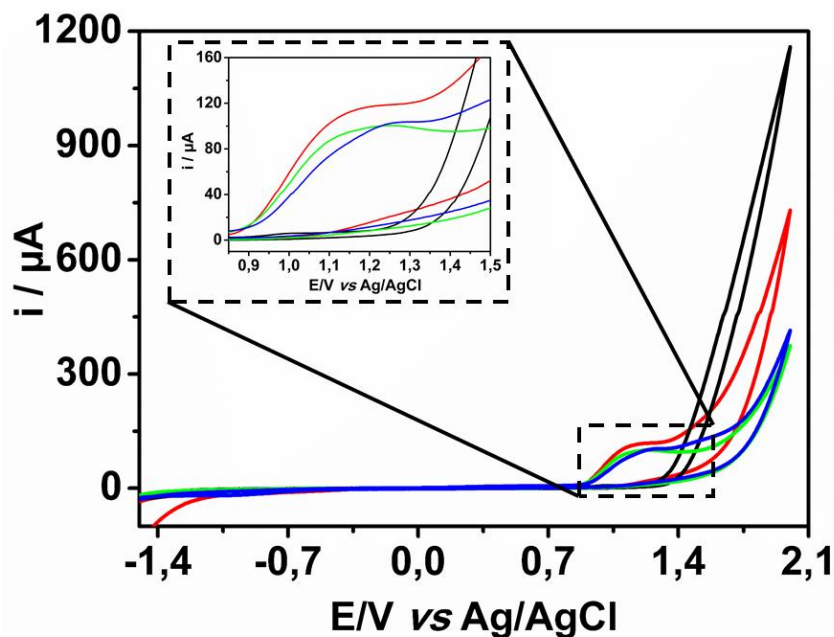
$$E_{pa}(V) = 1,28(\pm 0,01) - 0,08 \cdot pH \quad (8)$$

Para a escolha do melhor pH priorizou-se a maior seletividade para o desenvolvimento do método desenvolvido, uma vez que as amostras trabalhadas no presente estudo são complexas e podem apresentar possíveis contaminantes. Assim, o pH 10, com menor potencial apresentado no primeiro processo de oxidação, foi escolhido, uma vez que se pode evitar a oxidação de outros compostos interferentes.

Com a definição do pH 10, dois eletrólitos com capacidade de tamponar o meio nesta faixa de pH foram avaliados, como o tampão borato e bicarbonato, conforme mencionado na parte experimental. Na Figura 16 é possível verificar os voltamogramas cíclicos do MDMA nos diferentes meios.

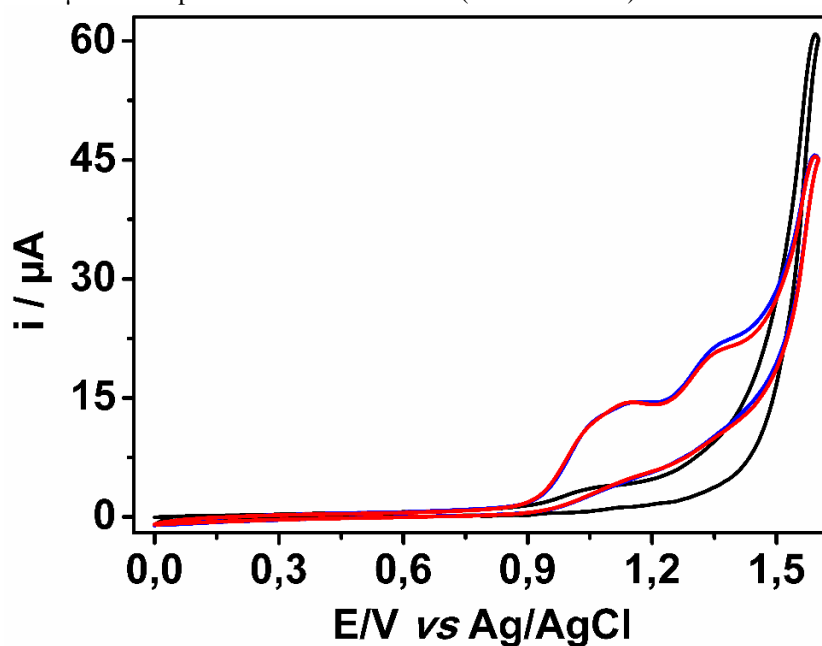
É possível notar na Figura 16 que o potencial do processo de oxidação do MDMA não se diferenciou significativamente entre os tampões estudados. A linha azul representada no gráfico é referente ao comportamento do analito no tampão bicarbonato, no qual foi apresentado a menor corrente de pico para o MDMA. O tampão BR é representado pela linha vermelha do gráfico, esse foi o meio que apresentou maior corrente de pico e por esse motivo foi o meio escolhido para as próximas análises.

Figura 16 - Voltamograma cíclico do MDMA 132 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em meio ao tampão borato 0,1 M (linha verde), tampão bicarbonato 0,1 M (linha azul) e TBR pH 10 com força iônica 0,1 M (linha vermelha) usando o eletrodo de BDD com tratamento catódico.



Previamente, antes da utilização do eletrodo de BDD é importante realizar um pré-tratamento desse sensor. A escolha do melhor tratamento para a detecção do MDMA foi estudada conforme descrito na parte experimental e os resultados são apresentados na Figura 17.

Figura 17 - Voltamogramas cíclicos em TBR pH 10 com força iônica 0,1 M (linha preta) e com adição do MDMA 211 $\mu\text{mol L}^{-1}$ após o tratamento catódico (linha vermelha) e tratamento anódico (linha azul).



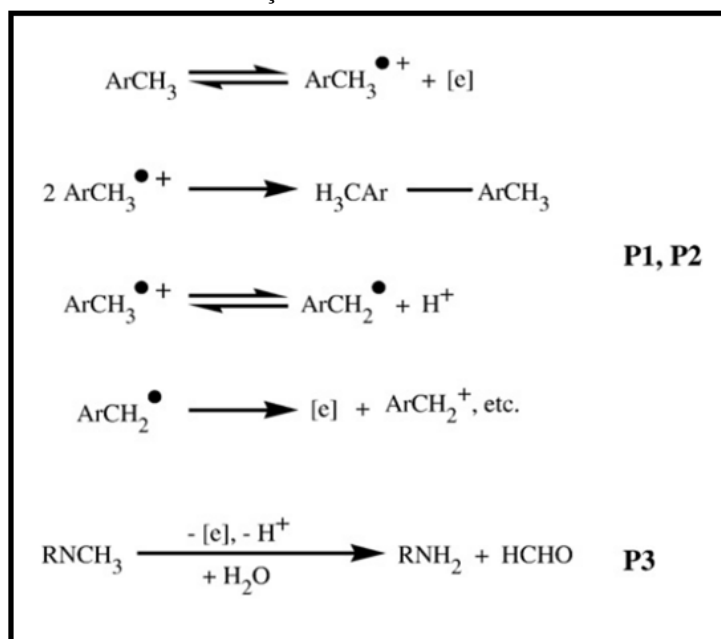
Esse processo antes das análises concebe à superfície do eletrodo características diferentes após cada tipo de tratamento, o que pode gerar um comportamento eletroquímico diferente para um mesmo composto. Esse processo pode ser anódico ou catódico utilizando, em ambas, uma solução ácida. O tratamento catódico envolve a superfície do eletrodo com hidrogênio, o que provoca uma característica mais hidrofóbica e com alta condutividade ao eletrodo. Já o tratamento anódico envolve a superfície com oxigênio gerando baixa condutividade e características hidrofílicas (SIMON *et al.* 2005; GIRARD, *et al.* 2007).

Como pode ser observado na Figura 17, o comportamento eletroquímico do MDMA após os dois pré-tratamentos não apresentou diferença significativa em função da seletividade e sensibilidade para os processos eletroquímicos do analito. Com isso, um teste de repetibilidade foi realizado utilizando os dois tratamentos, obtendo um DPR (10 medidas) para o tratamento catódico de 2,99% e para o tratamento anódico de 36,20%. Como isso, o tratamento catódico foi escolhido para utilização do desenvolvimento do método de análise. Dessa maneira, todas as análises foram realizadas após um tratamento catódico, sob o eletrodo de BDD no tampão BR pH 10 com força iônica de 0,1 M.

Em comparação aos resultados obtidos usando o BDD, na literatura é possível encontrar alguns trabalhos que avaliaram o comportamento eletroquímico do MDMA. Milhazes e colaboradores (2007), por exemplo, utilizou a técnica de VPD sobre o eletrodo de carbono vítreo e observaram dois picos de oxidação como resposta eletroquímica do MDMA em pH fisiológico (7,3). O primeiro pico anódico foi notado no potencial +1,05 V e o segundo no potencial +1,26 V. Esse comportamento eletroquímico do MDMA é semelhante ao comportamento obtido sobre o eletrodo BDD, porém com um deslocamento de potencial, o que é esperado devido a mudança do eletrodo de trabalho ou variações do eletrodo de referência utilizados, bem como as diferentes condições eletrolíticas. Os autores sugerem que a primeira oxidação observada pode ser sobre o anel aromático e a segunda oxidação sobre a amina secundária apresentada pela molécula.

Em 2010, um estudo eletroquímico do MDMA foi realizado por Garrido e colaboradores também no eletrodo de carbono vítreo em tampão fosfato pH 7, no qual foi notado três picos de oxidação, cujo mecanismo proposto é apresentado na Figura 18.

Figura 18 - Mecanismo de oxidação do MDMA sob o eletrodo de carbono vítreo.

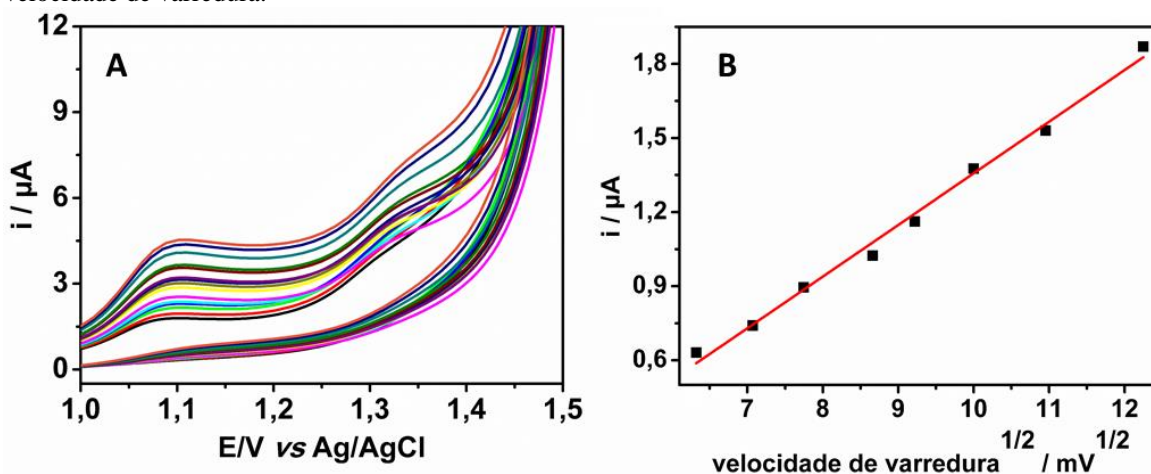


Fonte: GARRIDO, *et al.* 2010

Nesse estudo os autores propuseram um mecanismo de oxidação semelhante ao trabalho citado anteriormente, sendo que o primeiro processo anódico, referente à oxidação do anel aromático, resultando primeiro na formação de um cátion radical onde ocorre uma dimerização, gerando um pico de oxidação não mencionado por Milhazes *et al.* em 2007 e também não registrado sobre o eletrodo de BDD neste trabalho. Além disso, o último processo de oxidação é registrado e os autores sugerem que a oxidação ocorra na amina secundária apresentada pelo MDMA. Esse último processo de oxidação foi registrado nesse trabalho e no trabalho de Milhazes *et al.* 2007, porém como segundo processo. Dessa forma, o presente trabalho está de acordo parcialmente com mecanismo exposto na Figura 18 para oxidação do MDMA, com a exceção de que os dois processos iniciais (indicados como P1 e P2 na Fig. 16) estão sobrepostos e são apresentados no primeiro pico de oxidação notado com o uso do BDD, sendo um deles um ombro observado quando o eletrodo foi tratado eletroquimicamente. Esse comportamento no BDD pode estar relacionado à cinética alta da reação de uma dessas etapas.

A avaliação do transporte de massa do MDMA até a superfície do BDD foi realizada pelo estudo da velocidade de varredura por VC de 10 mV s^{-1} a 150 mV s^{-1} em tampão BR pH 10 sobre BDD, conforme mostrado na Figura 19.

Figura 19 - Estudo da velocidade de varredura do MDMA $150 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de BDD em tampão BR pH 10 com força iônica 0,1 M. A) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura; B) Regressão linear das correntes de pico para o primeiro processo de oxidação em relação a raiz quadrada da velocidade de varredura.

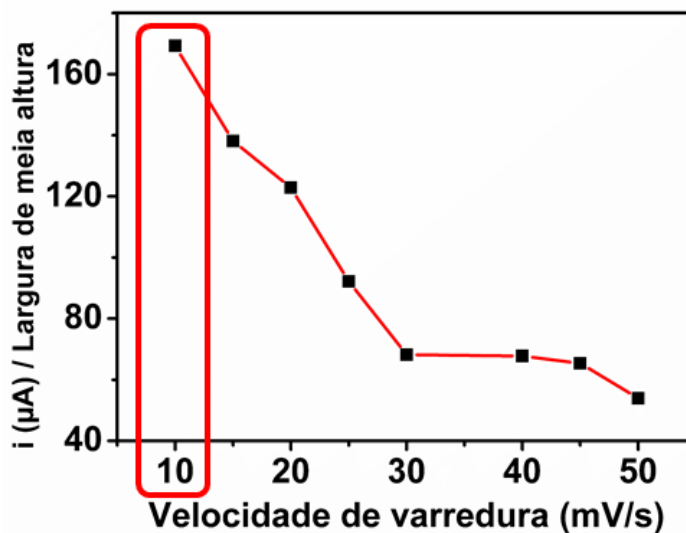


Na Figura 19 é possível observar um aumento da corrente de pico do primeiro processo de oxidação à medida que a velocidade de varredura aumenta. Além disso, um gráfico de corrente de pico vs a raiz quadrada da velocidade de varredura mostrou-se linear (Figura 19B), indicando que o transporte de massa do MDMA no eletrodo de BDD é controlado por difusão.

5.2 Otimização dos parâmetros de VPD e VOQ

Para a análise da VPD é necessário a otimização da velocidade de varredura e amplitude. O primeiro a ser analisado é a velocidade de varredura, para sua otimização foram feitas VPDs nos valores de 10 a 50 mV s^{-1} , conforme observado na Figura 20.

Figura 20 - Otimização da velocidade de varredura em VPD, utilizando uma solução de MDMA a $132 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de BDD.

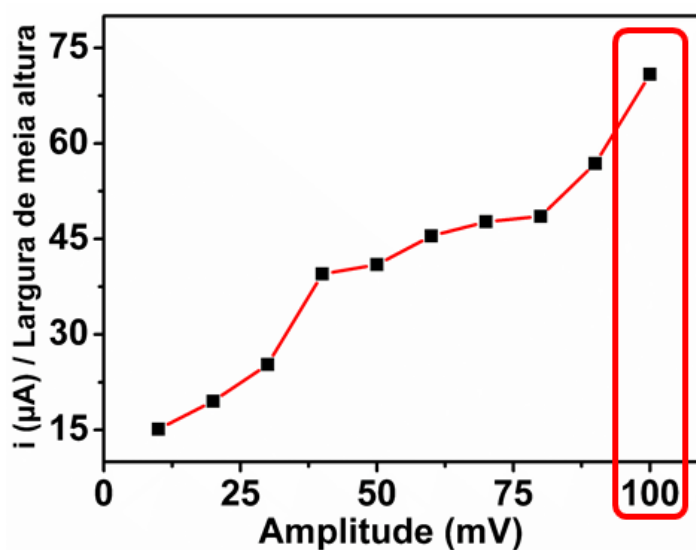


A sensibilidade da técnica se dá pela maior corrente apresentada e a seletividade é obtida quando há uma menor largura do pico. Por essa razão, foi escolhido a velocidade de varredura que apresentasse a maior razão entre a corrente de pico e a largura de meia altura. O valor otimizado foi 10 mV s^{-1} .

O mesmo processo e raciocínio foi feito para a otimização da amplitude, para isso a velocidade de varredura foi estabilizada em 10 mV s^{-1} e a amplitude variou entre 10 a 100 mV.

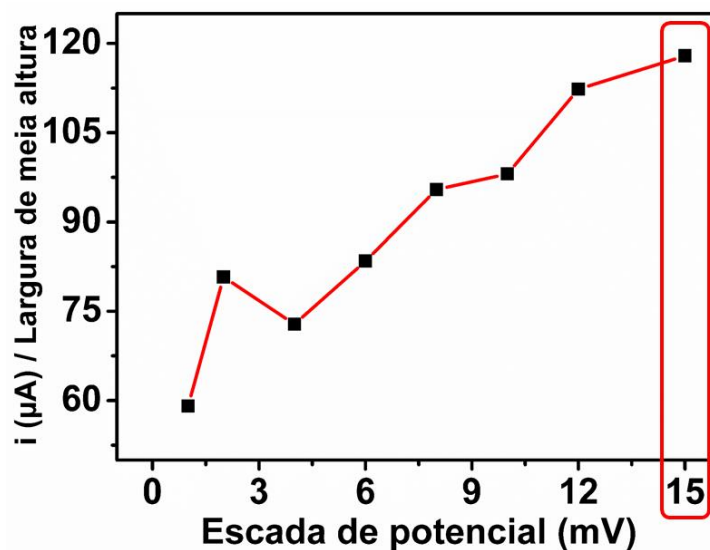
Cabe mencionar que valores maiores de 100 mV não foram avaliados devido à observação de ruídos na VPD, assim o melhor resultado foi obtido com amplitude de 100 mV, conforme apresentado na Figura 21. Com isso, as análises realizadas a partir da otimização foi utilizando os parâmetros otimizados de velocidade de varredura de 10 mV s^{-1} e amplitude de 100 mV.

Figura 21 - Otimização da amplitude em VPD utilizando uma solução de MDMA a $132 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de BDD.



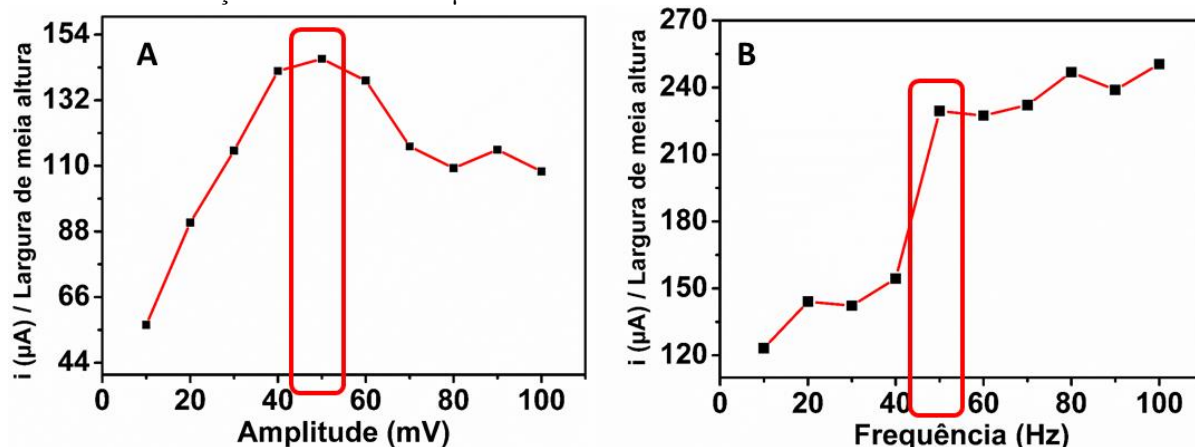
Já a técnica de VOQ requer otimização de três parâmetros, a escada de potencial, amplitude e frequência. Primeiramente, a escada de potencial foi otimizada com análise de 1 à 15 mV do padrão de MDMA a $132 \mu\text{mol L}^{-1}$, conforme mostrado na Figura 22. Para a escolha dos melhores parâmetros foi considerado o mesmo raciocínio utilizado na otimização dos parâmetros da VPD e valores maiores de escada de potencial não foram estudados devido a ruído na linha de base da técnica.

Figura 22 - Otimização da escada de potencial em VOQ, utilizando uma solução de MDMA a $132 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de BDD.



Para a amplitude e frequência o mesmo processo para otimização da escada de potencial foi utilizado. A amplitude variou de 15 mV à 100 mV e, após a escolha da melhor amplitude, a frequência foi avaliada de 10 Hz à 100 Hz, conforme a Figura 23. Dessa forma, como pode ser observado na Figura 22 e 23, os parâmetros da VOQ que obtiveram os melhores resultados foram escada de potencial 15 mV, amplitude 50 mV e frequência de 50 Hz.

Figura 23 - A) Otimização da amplitude em VOQ; B) Otimização da frequência em VOQ, ambos utilizando uma solução de MDMA a $132 \mu\text{mol L}^{-1}$ sobre o eletrodo de BDD.

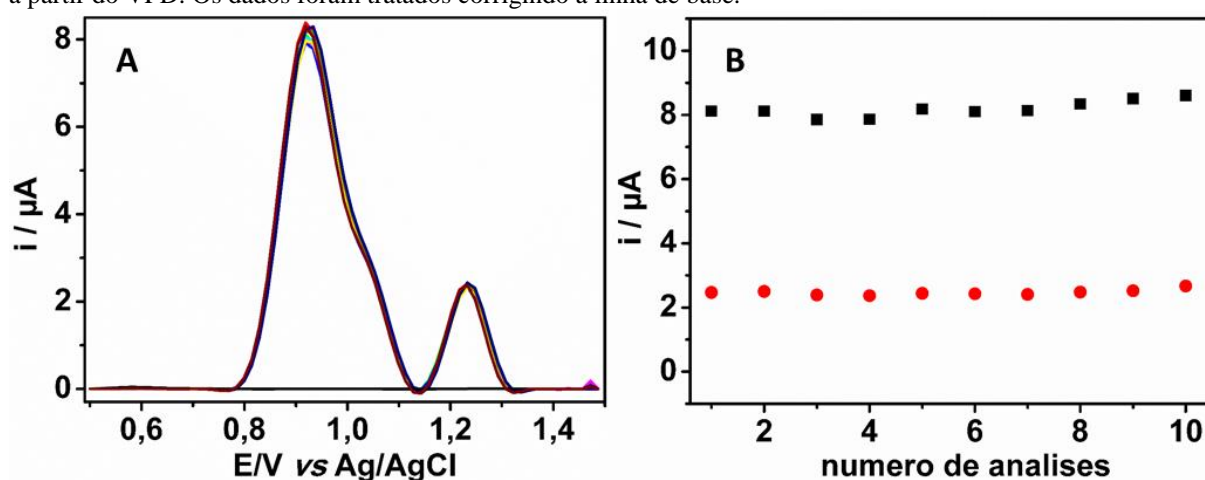


A escolha da melhor técnica a ser utilizada foi realizada por meio do teste de repetibilidade usando ambas técnicas de detecção. Para a técnica de VPD o DPR obtido foi de 2,99%, já para a técnica de VOQ o DPR calculado foi de 3,97%. Esses valores mostram que a técnica de VPD apresentou maior repetibilidade que a técnica de VOQ e por esse motivo a primeira técnica foi escolhida para a análise de MDMA.

5.3 Análise de repetibilidade e reprodutividade

Para o estudo de repetibilidade do método foram realizadas dez análises de uma solução padrão de MDMA a $132 \mu\text{mol L}^{-1}$ pela técnica de VPD, conforme a apresentado na Figura 24.

Figura 24 - Teste de repetibilidade do MDMA em meio tampão BR pH 10 força iônica 0,1 M sob o eletrodo de BDD após tratamento catódico com amplitude de 100 mV e velocidade varredura de 10mV s^{-1} ; A) Voltamograma de pulso diferencial de dez análises consecutivas de uma solução de MDMA à $132 \mu\text{mol L}^{-1}$. B) Corrente de pico do primeiro (pontos pretos) e segundo processo de oxidação (pontos vermelhos) das dez medidas a partir do VPD. Os dados foram tratados corrigindo a linha de base.



Considerando as correntes de pico apresentadas em cada análise (Figura 24B), foi calculado um DRP de 2,99% e 3,47% para o primeiro e segundo processo de oxidação, respectivamente. As análises foram realizadas de forma consecutiva e apenas uma agitação foi feita entre cada análise. Análises com concentrações mais altas ($1000 \mu\text{mol L}^{-1}$) e baixas ($6,0 \mu\text{mol L}^{-1}$) de MDMA também foram realizadas, obtendo um DPR para o primeiro processo de 3,44% e 3,69%, respectivamente. Esses resultados mostram a possibilidade de análises sucessivas de MDMA sem a necessidade de um tratamento ou limpeza do eletrodo de trabalho. Além disso, o resultado se justifica pela alta estabilidade do eletrodo de BDD que foi utilizado no método proposto.

O estudo de reprodutibilidade foi realizado utilizando diferentes operadores, eletrodos de trabalho de BDD, células eletroquímicas, bem como o dia de análise conforme a Tabela 1.

Tabela 1 - Teste de reprodutibilidade do MDMA sob o eletrodo de BDD

Parâmetro	DPR (%)	Parâmetro	DPR (%)
Célula eletroquímica (N=3)	2,37%	Inter-dia (N=3)	2,68%

Eletrodo de trabalho (N=3)	1,38%	Intra-dia (N=3)	3,76%
Equipamento (N=3)	2,10%	Operador (N=3)	1,46%

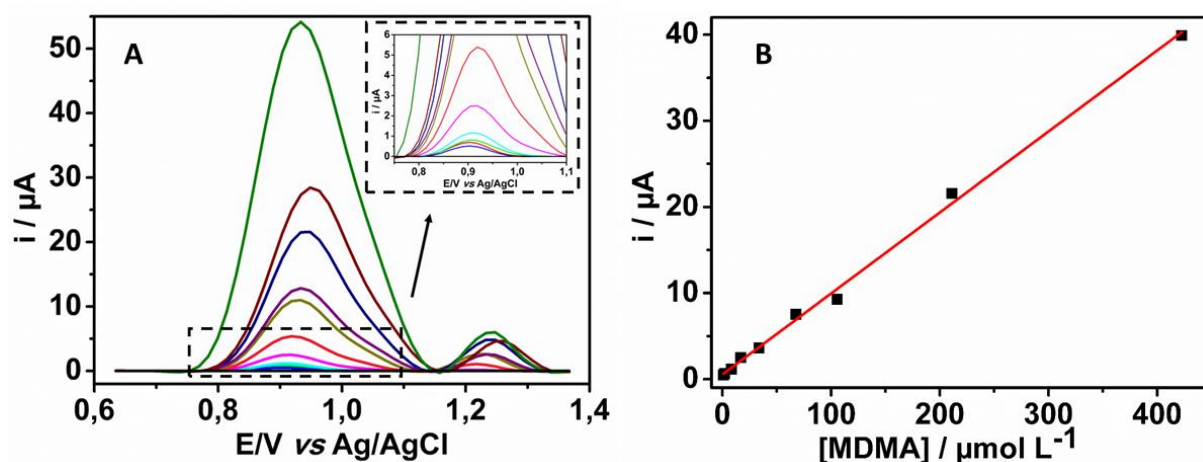
Como pode ser visto na Tabela 1, o maior DPR foi observado na variação de análises intra-dia, mas mesmo assim apresentou um valor satisfatório. Os demais resultados apresentaram DPRs relativamente baixos para análises de rotina em amostras forenses, sendo a alteração do eletrodo de trabalho com menor DPR. Esse estudo indica a baixa variabilidade do método proposto, característica importante dentro de método de triagem (*screening*).

Na aplicação forense, os testes de triagem são utilizados para verificar a presença ou ausência de uma determinada substância, com isso são utilizados testes qualitativos. Por se tratar de drogas ilícitas a quantidade do composto presente nas amostras apreendidas não é inicialmente relevante, qualquer quantidade presente nos comprimidos já é indício de tráfico de drogas. Assim, uma boa repetibilidade do método como apresentado neste trabalho usando o BDD é essencial para análises forenses

5.4 Estudo de linearidade e limite de detecção

A análise da linearidade para quantificação do MDMA foi realizada por VPD utilizando soluções padrão do MDMA em concentrações que variaram de 1,06 a 422 $\mu\text{mol L}^{-1}$, conforme mostrado na Figura 25.

Figura 25 – Estudo de linearidade do MDMA em meio tampão BR pH 10 com força iônica 0,1 M sob o eletrodo de BDD após tratamento catódico com amplitude de 100 mV e velocidade varredura de 10mV s^{-1} ; A) VPDs obtidos de soluções de MDMA em concentrações de (a) 1,06 a (i) 422,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Em destaque os picos de oxidação observado em baixas concentrações; B) Regressão linear da corrente do primeiro pico de oxidação do MDMA em função das concentrações. Os dados foram tratados corrigindo a linha de base.



A curva de calibração observada na Figura 25B foi elaborada com base na média calculada das correntes de pico obtida de cada análise em triplicata. A regressão obtida apresentou uma boa linearidade com coeficiente de correlação linear, $R^2 = 0,997$. A equação da relação entre a corrente de pico e concentração de MDMA é:

$$I(\mu A) = 0,0941 \cdot [MDMA] (\mu mol \cdot L^{-1}) (\pm 0,0018) + 0,5436 (\pm 0,2950) \quad (9)$$

O LOD foi calculado a partir da regressão linear atingida, sendo de $0,52 \mu mol L^{-1}$. Como o método proposto sugere uma diluição da amostra, antes da análise, em até dez vezes, o valor mínimo detectável é de 1mg de MDMA por comprimido. Em geral apreensões de *ecstasy* mostram uma variação de 80 mg a 150 mg de MDMA por comprimido (GREEN, *et al.* 2003). Dessa forma, o método proposto apresenta uma boa linearidade e pode ser utilizado para identificação e determinação de MDMA em comprimidos.

Como já mencionado anteriormente, para os testes de triagem uma análise qualitativa já atende a necessidade de identificar a presença ou ausência de uma substância ilícita. Nesse parâmetro, o método proposto pelo presente estudo já se mostra uma alternativa, pois possibilita a detecção de baixas concentrações de MDMA, além de ser um método reprodutível. Porém, a utilização de um método quantitativo também é de grande relevância para outros estudos forenses, como por exemplo, a triagem das diferentes amostras apreendidas e uma possível identificação de laboratórios e traficantes pela quantidade similar da droga presente nessas amostras.

Na literatura é possível encontrar outros métodos eletroanalíticos para determinação de MDMA. Em 1993, Michel e colaboradores detectou MDMA e MDA em amostras de sangue total por CLAE acoplado à um detector amperométrico. Garrido e colaboradores (2007) estudaram o comportamento eletroquímico de anfetaminas e desenvolveram um método para quantificação de MDMA em amostras de soro humano. Já em 2014, Tadini e colaboradores desenvolveram um eletrodo quimicamente modificado para determinação de MDMA. Dessa forma, os parâmetros analíticos desse trabalho são comparados e apresentados com alguns reportados na Tabela 2.

Tabela 2 - Comparação dos resultados obtidos com trabalhos já publicados

Método (SIGLAS)	Faixa Linear ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	Repetibilidade DPR (%)	Amostra	Ref.
CLAE-AMP ¹	5,17x10 ⁻³ a 5,17	-	8,85	Sangue total	(MICHEL; REGE; GEORGE, 1993)
AMP ²	6,72x10 ⁻⁴ a 2,07	0,04/0,36*	<7	Urina e saliva	(BUTLER; PRAVDA; GUILBAULT. 2006)
VOQ ³	8,00 a 45,00	2,40	1,80	Comprimidos e soro	(GARRIDO, <i>et al.</i> 2010)
VC ⁴	4,20 a 48,00	2,70	-	Soluções padrão de MDMA	(TADINI, <i>et al.</i> 2014)
VPD ⁵	1,06 a 422,00	0,50	2,99	Comprimido	Este trabalho

¹CLAE com detecção amperométrica utilizando eletrodo de carbono vítreo; ²Amperometria utilizando um imonossensor desenvolvido pelos autores; ³Voltametria de onda quadrada com eletrodo de carbono vítreo; ⁴Voltametria Cíclica com eletrodo de carbono vítreo quimicamente modificado com CB[6]; ⁵Voltametria de pulso diferencial com eletrodo de Diamante dopado com Boro. * 0,36 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para amostras de urina e 0,042 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para amostras de saliva.

Na tabela 2 é possível verificar a faixa linear e o limite de detecção encontrado em outros estudos, constatando que o método proposto neste trabalho apresentou uma faixa linear mais ampla, além de apresentar um baixo LOD. Esses resultados podem ser devido ao uso do BDD como eletrodo de trabalho, que é um eletrodo altamente estável com baixa corrente de fundo, o que aumenta a relação sinal ruído. Alguns trabalhos apresentaram um LOD menor que o do método desenvolvido, a cromatografia gasosa com espectroscopia de massa (SCHEIDWEILER, *et al.* 2008) e a espectroscopia de mobilidade iônica com espectroscopia de infravermelho com LOD 0,237 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (ARMENTA, *et al.* 2015), porém esses métodos são mais dispendiosos e complexos.

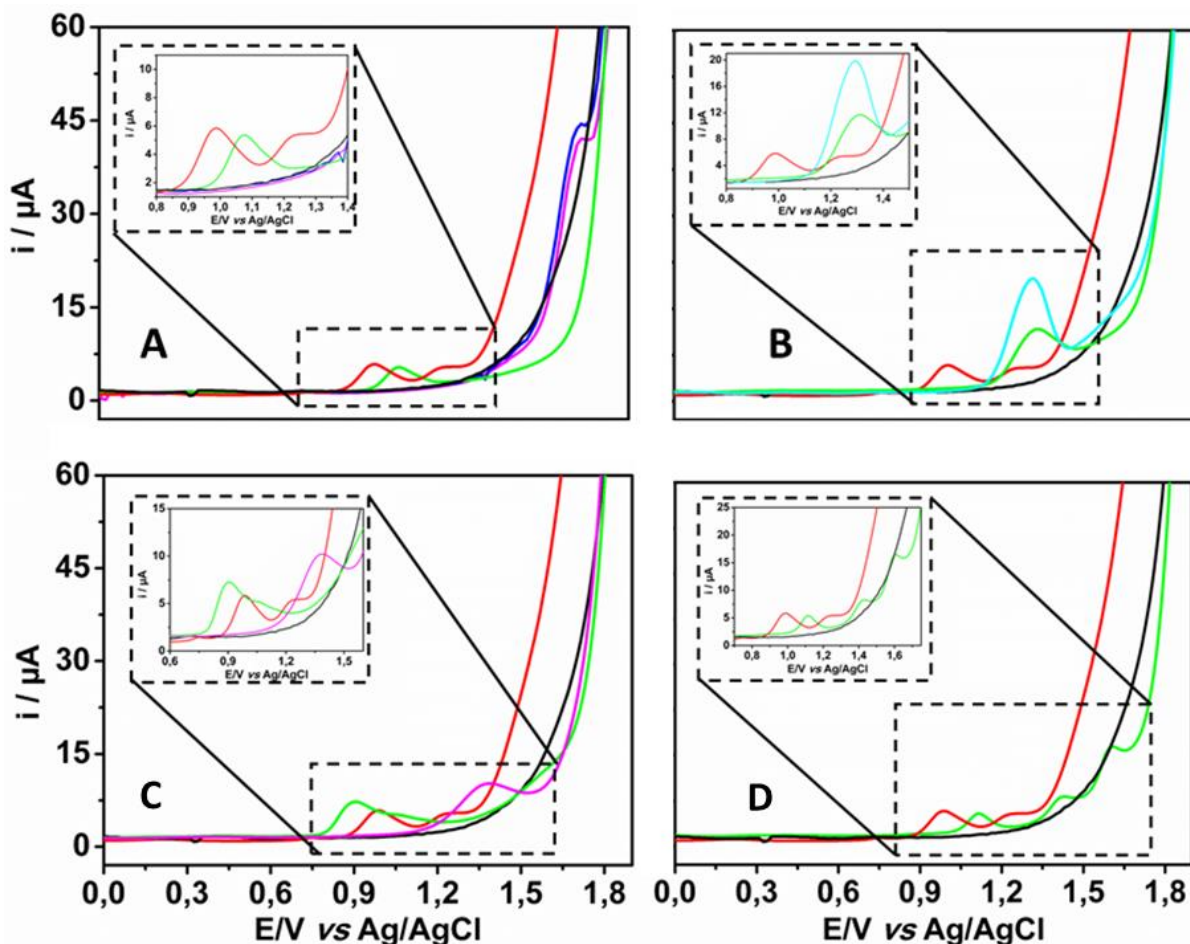
5.5 Teste de interferentes em comprimidos

Para a análise de interferentes foram investigadas algumas drogas que também podem ser encontradas em forma de comprimidos e consequentemente, podem ser encontradas juntamente com o MDMA (Figura 26). Cabe mencionar que, todos esses compostos não são encontrados juntos em uma mesma amostra apreendida, sendo normalmente identificados uma ou duas drogas em cada comprimido.

Como pode ser observado na Figura 26, o primeiro grupo analisado foram os derivados da anfetamina, como A, MA e o MDEA. Essas substâncias podem ser encontradas no *ecstasy* junto com o MDMA, porém em menor quantidade (XAVIER *et al.* 2007). Pela Figura 26A é possível observar que a A e MA apresentam picos de oxidação em mesmo

potencial, +1,70 V, distante do MDMA. Já o MDEA apresenta um único processo de oxidação no potencial +1,05 V, entre os dois picos de oxidação do MDMA. Esses resultados mostram uma fácil diferenciação do MDMA com essas demais substâncias, com exceção do MDEA que dependendo da sua concentração pode sobrepor os processos do MDMA. O segundo grupo estudado foi dos derivados de catinona (Figura 26B), O ME não apresentou processos de oxidação e redução sobre o eletrodo de BDD nas condições estudadas. Já o bk-MDMA e o MDPV apresentam um único processo de oxidação em um mesmo potencial, +1,30 V, próximo ao segundo pico do MDMA. Porém, levando em consideração o primeiro pico do MDMA é possível a identificação desse diante dos derivados de catinona estudados.

Figura 26 - A) VPD do MDMA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (linha vermelha), A 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (linha rosa), MDEA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (verde claro) e MA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (linha azul escuro) B) VPD do MDMA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (linha vermelha), bk-MDMA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (linha roxa) e MDPV 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (linha vinho) C) VPD do MDMA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (linha vermelha) e mCPP 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (linha laranja), BZP 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (linha lilás) D) VPD do MDMA 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (linha vermelha) e 2C-B 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (linha azul claro). Todas as análises foram feitas em meio tampão BR pH 10 com força iônica 0,1 M, amplitude de 100 mV e velocidade de varredura 10 mV s^{-1} , após tratamento catódico.



Os derivados de piperazona também foram analisados (Figura 26C), como o mCPP e o BZP. O mCPP apresentou dois processos de oxidação, o primeiro em +0,90 V e o segundo

em 1,05 V. Esses dois processos de oxidação estão próximos do primeiro pico de MDMA. Assim, levando em consideração o perfil eletroquímico do MDMA, é possível diferenciá-lo dos derivados de piperazona pelo segundo pico de oxidação. Já o BZP apresentou um pico de oxidação em +1,40 V e poderia ser diferenciado do MDMA pelo seu primeiro processo de oxidação. A interferência do 2C-B também foi investigada (Figura 26D), esse mostrou três picos de oxidação, o primeiro em +1,15 V, o segundo em +1,40 V e o terceiro em +1,60 V, um perfil diferente do MDMA e de possível diferenciação.

Como mostrado na Figura 26, há possibilidade de diferenciação do MDMA sob o eletrodo de BDD diante das drogas analisadas como possíveis interferentes, porém a diferença da concentração entre elas pode sobrepor os sinais observados. É importante destacar que, em se tratando de drogas ilícitas em vários países, qualquer uma dessas substâncias, quando identificadas, evidencia a lavratura de Auto de Prisão em Flagrante Delito pelos órgãos responsáveis, ou seja, o sensor pode funcionar como uma triagem para quase todas essas drogas.

5.6 Estudo de adição de recuperação em amostras de *ecstasy*

Como o método de adição e recuperação por calibração externa não apresentou resultados satisfatórios devido aos efeitos de matriz nas amostras de comprimidos de *ecstasy*, esses estudos foram realizados utilizando o método de calibração por adição padrão, conforme apresentado na parte experimental. Os resultados são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 - Análise de adição e recuperação em comprimidos de *ecstasy*. (N=3).

Amostra	Adição de MDMA ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	Deteção de MDMA ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	Recuperação (%)
Comprimidos	9,92	9,80($\pm 0,87\%$)	98,79

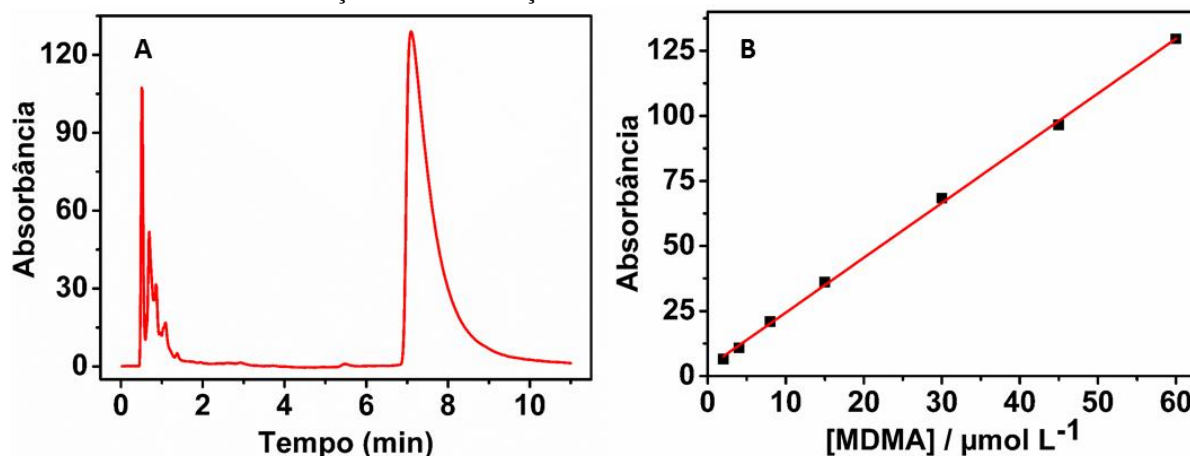
Com o uso do método de adição padrão a recuperação foi próxima de 100%. O resultado mostrou que, com o uso desse método, foi possível controlar o efeito de matriz provocado pelos outros compostos presentes nos comprimidos de *ecstasy*.

5.7 Comparação do método proposto

Para a comparação e validação do método proposto, primeiramente, foi analisado as amostras de *ecstasy* no método proposto e no CLAE com detecção em UV, conforme Lim,

2003. Assim, uma curva foi preparada com o padrão de MDMA conforme mostrado na Figura 27.

Figura 27 – A) Cromatograma do padrão de MDMA 60 $\mu\text{mol L}^{-1}$; B) Regressão linear da absorbância do MDMA em função das concentrações.



A curva foi feita na faixa de 2,0 a 60,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com um $R^2=0,999$. Em seguida foi realizada análise, em triplicata, do comprimido e os resultados podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4 - Doseamento das amostras de *ecstasy*

Amostras	Técnica Proposta (mg/comprimido)	HPLC-UV (mg/comprimido)
01	139,43	135,17
02	141,07	135,57
03	141,23	140,36

De acordo com Green *et al.* (2003), nos comprimidos de *ecstasy*, o MDMA pode variar de 80 a 150 mg por comprimidos. O valor médio encontrado no comprimido de *ecstasy* pelo método proposto foi de 140,58 mg/comprimido, já pelo CLAE-UV foi de 137,03 mg/comprimido, que são valores esperados.

Para os testes de comparação, os resultados são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Resultados do teste F e teste *t-pareado*

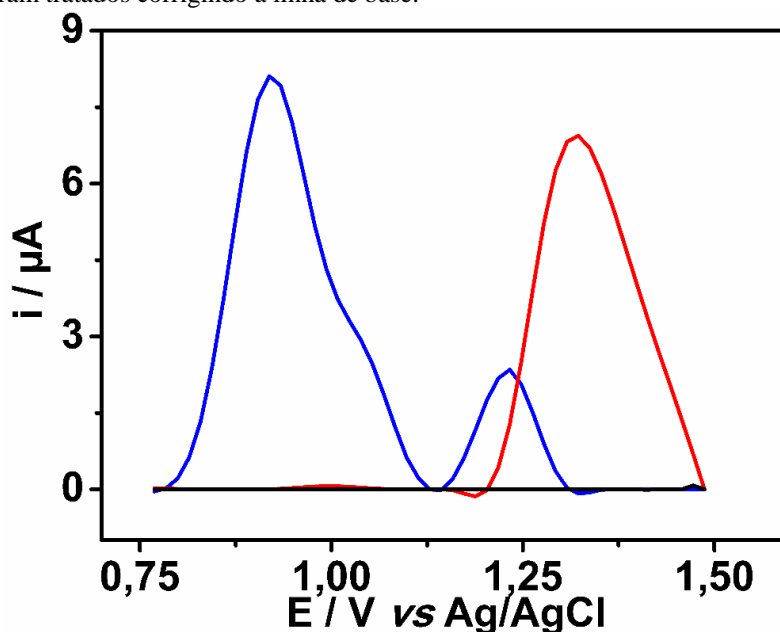
Teste F				
Amostra	F calculado	F tabelado	Comparação	Resultado
MDMA	8,3521	19,0000	F cal < F tab	Equivalentes
Teste T-pareado				
Amostra	T calculado	T tabelado	Comparação	Resultado
MDMA	2,2200	2,7760	T cal < T tab	Semelhante

De acordo com os testes realizados o método proposto é semelhante ao método comparado e equivalente em relação à precisão. Isso mostra que o método proposto pode ser utilizado também como método de quantificação do MDMA em comprimidos de *ecstasy*.

5.8 Análise do MDMA em saliva

Para iniciar os estudos com a saliva, primeiramente foi feita uma extração simples da saliva usando o Salivette®, diluiu-se a amostra dez vezes no eletrólito suporte, o tampão BR em pH 10 e, então, foi realizada uma análise no método proposto para verificar o comportamento eletroquímico da saliva. O estudo é apresentado na Figura 28.

Figura 28 - Voltamograma de pulso diferencial do tampão BR pH 10 (linha preta), da amostra de saliva natural diluída três vezes (linha vermelha) e do MDMA a $33,80 \mu\text{mol L}^{-1}$ (linha azul) sob o eletrodo de BDD. Os dados foram tratados corrigindo a linha de base.

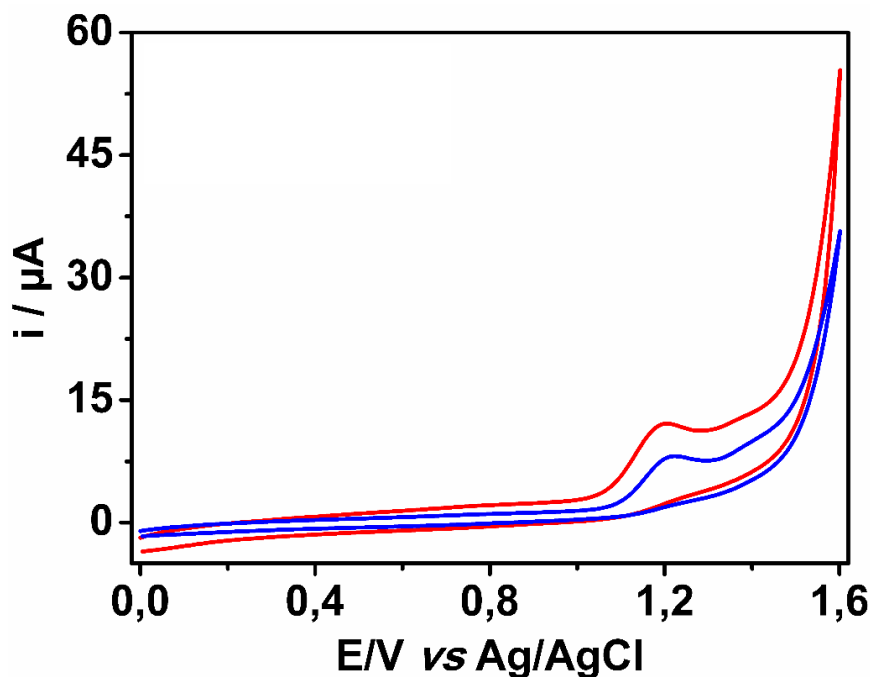


Como observado na Figura 28 a saliva apresentou um pico de oxidação, em aproximadamente +1,37 V, muito próximo ao segundo pico de oxidação do MDMA. Inicialmente, esse processo de oxidação apresentado pela saliva não é um interferente já que todas as análises levaram em consideração apenas o primeiro processo de oxidação do MDMA. Porém análises de adição e recuperação foram realizadas e não foram obtidos resultados satisfatórios, provavelmente, devido algum efeito da matriz de saliva.

Por essa razão foi necessário o uso de um processo de extração do MDMA em saliva. Assim, foi utilizado o SAB constituído por PEG 1500 a 50,31% e sulfato de lítio a 22,37%, concentrações que correspondem ao comprimento da 3^o LA (MARTINS, *et al.* 2008).

Para isso, foi verificado, inicialmente, se essas fases do sistema poderiam ser usadas como eletrólitos para detecção eletroquímica do MDMA, para uma análise mais prática e rápida. Esses estudos para analisar o comportamento eletroquímico do MDMA em cada uma das fases foram realizados preparando os sistemas, conforme apresentado na parte experimental, com a adição do analito somente após a separação e coleta das fases. A Figura 29, mostra os voltamogramas cíclicos do MDMA utilizando as fases como eletrólito.

Figura 29 - Voltamograma cíclico do MDMA a $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ na FS (linha azul) e na FI (linha vermelha) sob o eletrodo de BDD após o tratamento catódico e amplitude de 100 mV e velocidade de varredura 10 mV s^{-1} .

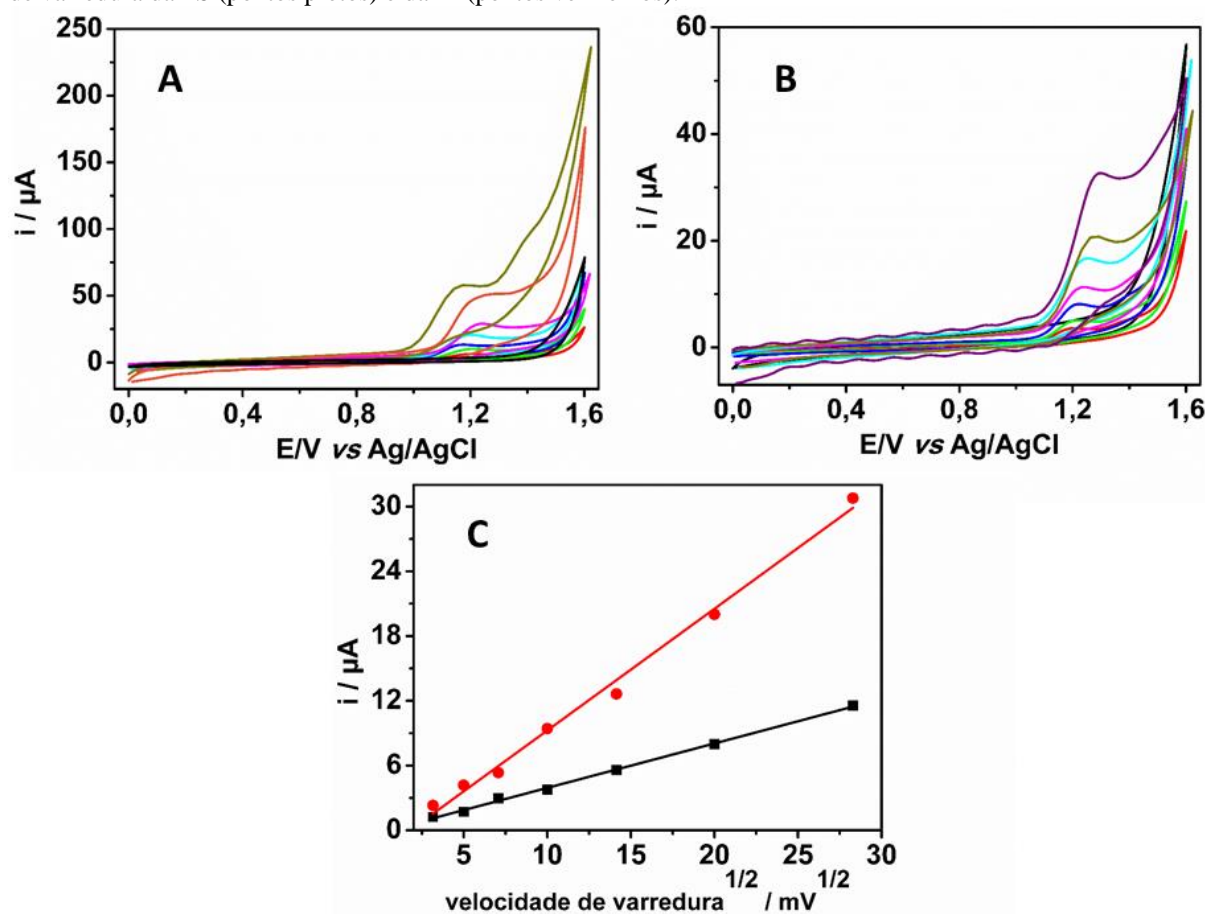


Como observado no Figura 29, o MDMA apresenta apenas um processo de oxidação quando analisado nas fases do sistema. Esse resultado é esperado devido a mudança de eletrólito. Na FS, constituída principalmente por polímero, o MDMA apresentou oxidação no potencial +1,10 V e na FI, no potencial +1,08 V.

Como realizado no eletrólito suporte otimizado para o método desenvolvido, um estudo da variação da velocidade de varredura foi também feito em cada fase do sistema para um melhor conhecimento do comportamento eletroquímico do MDMA em cada uma das fases (Figura 30).

Conforme mostrado na Figura 30, na FS, composta principalmente por polímeros, a regressão linear da relação da corrente *vs* raiz quadrada da velocidade de varredura apresenta um coeficiente angular menor ao comparar com o coeficiente angular da FI (C.A._{superior} = 0,4117; C.A._{inferior} = 1,1277).

Figura 30 - Estudo da velocidade de varredura do MDMA 150 $\mu\text{mol L}^{-1}$ nas fases do SAB sob o eletrodo de BDD após o tratamento catódico e amplitude de 100 mV e velocidade de varredura 10 mV s^{-1} . A) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura na FI; B) Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura na FS; C) Regressão linear das correntes de pico em relação a raiz quadrada da velocidade de varredura da FS (pontos pretos) e da FI (pontos vermelhos).



Na voltametria cíclica, a equação de Randles-Sevcik (Equação 9) permite avaliar a relação entre a corrente de pico e coeficiente de difusão, uma vez que esses parâmetros são diretamente proporcionais na equação.

$$i_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (10)$$

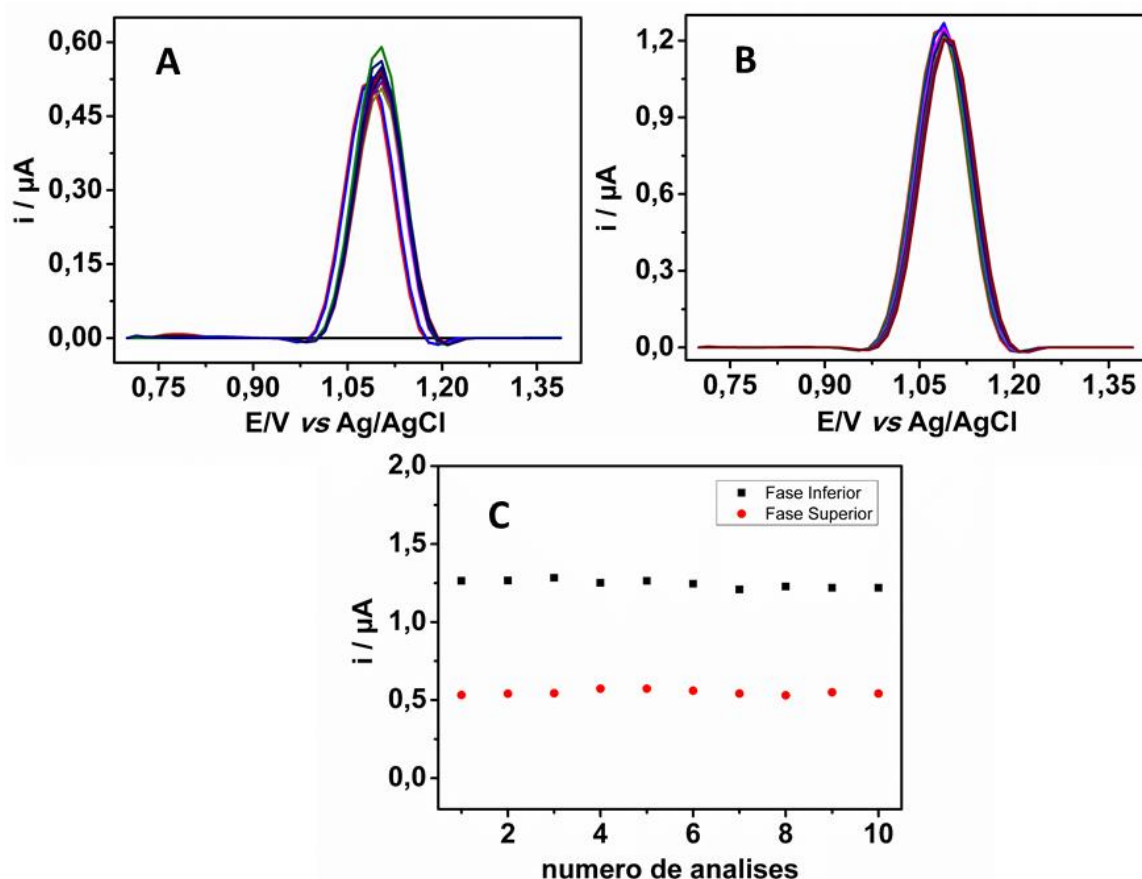
Onde i_p é a corrente de pico, n é o número de elétrons, A é a área do eletrodo (cm^2), C é a concentração do analito (mol cm^{-3}) e D o coeficiente de difusão ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$). Assim, como

número de elétrons, área do eletrodo, concentração do analito e a velocidade de varredura são constantes, somente o coeficiente de difusão está influenciando na diferença da corrente de pico entre as duas fases. Com isso, pode-se concluir que, na FS, o coeficiente de difusão é menor ao comparar com a FI. O resultado é esperado já que a FS é rica em polímeros. As soluções poliméricas apresentam alta viscosidade devido ao alto tamanho das moléculas e com isso dificulta a difusão das moléculas de MDMA na solução o que não apresenta características de um bom eletrólito, já a FI, rica em sulfato de lítio, possui essas características.

5.9 Avaliação dos parâmetros analíticos do SAB

Para a escolha da melhor fase de análise do MDMA alguns parâmetros analíticos foram estudados nesses dois meios. O estudo de precisão do MDMA em cada fase foi realizado como descrito na parte experimental e o resultado é apresentado na Figura 31.

Figura 31 - Teste de repetibilidade do MDMA sob o eletrodo de BDD após o tratamento catódico com amplitude de 100mV e velocidade de varredura 10mv s^{-1} . A) Voltamograma de pulso diferencial de dez análises consecutivas de uma solução de MDMA à $150\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ na FS; B) Voltamograma de pulso diferencial de dez análises consecutivas de uma solução de MDMA à $150\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ na FI; C) Corrente de pico do MDMA na FS (pontos em vermelho) e FI (pontos em preto) das dez medidas a partir do VPD. Os dados foram tratados corrigindo a linha de base.

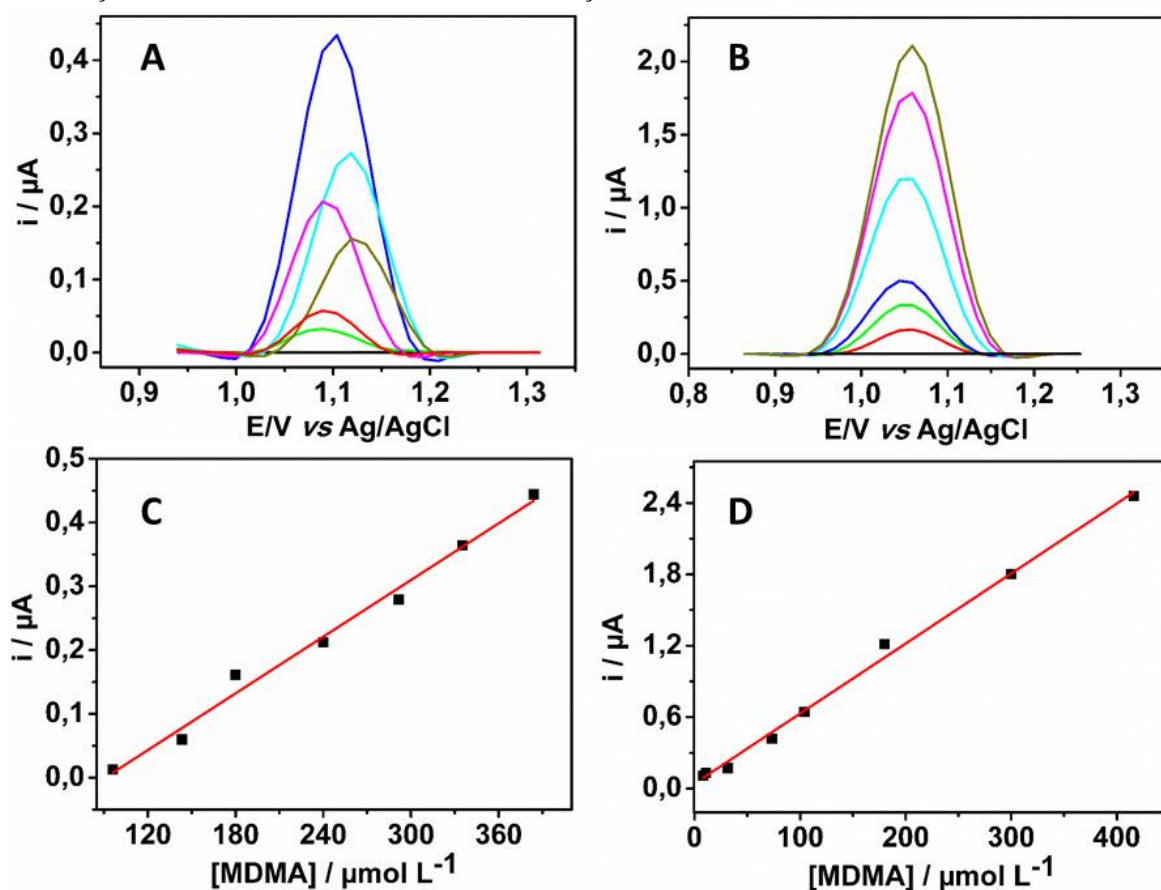


Conforme mostrado na Figura 31, dez análises consecutivas do MDMA na concentração de $150 \mu\text{mol L}^{-1}$ foram realizadas e em seguida o DPR foi calculado, obtendo um valor de 2,78% na FS e 2,0% na FI.

As análises de MDMA em saliva são importantes em análises forenses para identificar usuários que venham a praticar crimes sejam presos em Auto de Prisão em Flagrante Delito, bem como, para propor uma política de controle motoristas que dirigem sob efeito dessa droga. Seguindo o mesmo raciocínio da detecção em comprimidos, somente a confirmação da presença ou ausência da droga na saliva é suficiente para orientar policiais em sua conduta. Com o resultado de repetibilidade nas amostras de saliva, o método gera uma boa perspectiva para utilização como um método de triagem.

A quantificação dessa droga em saliva também é de grande importância para estudos comportamentais e bioquímicos da droga. Dessa forma, um estudo de linearidade foi realizado também para cada fase, os resultados são mostrados na Figura 32.

Figura 32 - Estudo de linearidade do MDMA nas fases do SAB sob o eletrodo de BDD após tratamento catódico com amplitude de 100 mV e velocidade varredura de 10mV s^{-1} ; A) VPDs obtidos de soluções de MDMA em concentrações de $96 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $384 \mu\text{mol L}^{-1}$ na FS; B) VPDs obtidos de soluções de MDMA em concentrações de $8,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $420 \mu\text{mol L}^{-1}$ na FI; C) Regressão linear da corrente de pico do MDMA de acordo com cada concentração na FS; D) Regressão linear da corrente de pico do MDMA de acordo com cada concentração na FI. Os dados foram tratados com correção de linha de base.



Na FS foi alcançado uma faixa linear de 96 a 384 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A equação 11 foi obtida com um coeficiente de correção linear de $R^2 = 0,990$. E o LOD obtido foi de 48 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

$$I(\mu A) = 0,0015 (\pm 7,16700 \times 10^{-5}) \cdot [MDMA](\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) - 0,1343 (\pm 0,0185) \quad (11)$$

Já na FI foi obtido uma faixa linear mais ampla, ao comparar com a FS, iniciando em 8,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e até 420 $\mu\text{mol L}^{-1}$. A equação obtida da regressão linear é apresentada abaixo (Equação 12), com $R^2 = 0,996$ e o LOD calculado foi de 4,15 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

$$I(\mu A) = 0,00588 (\pm 1,49 \times 10^{-4}) \cdot [MDMA](\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) + 0,04177 (\pm 0,0295) \quad (12)$$

Na literatura é possível encontrar valores diferentes de MDMA quantificados na saliva, podendo variar de 2,59 a 62 $\mu\text{mol L}^{-1}$ dependendo do tempo de coleta após o uso. Barnes e colaboradores (2011) determinou a quantidade de MDMA e seus metabolitos em saliva coletadas em adultos que consumiram, de forma controlada, o MDMA. A determinação foi realizada por CG-MS. Após 1h de uso, foi detectado 62 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de MDMA nas salivas. Considerando os LOD do MDMA apresentados em cada fase, é possível a determinação desse utilizando o método de extração proposto.

Inicialmente, diante do estudo realizado, observa-se uma maior detectabilidade do analito na FI ao se comparar com a FS. Ao analisar soluções de mesma concentração em cada fase, o sinal apresentado na FI é maior que na FS. Além disso, de acordo com as equações obtidas das regressões lineares das curvas analíticas das fases é possível verificar que o coeficiente angular apresentado na FS é menor quando comparado ao da FI, isso mostra que a FI apresenta maior sensibilidade, assim, com uma pequena variação na concentração do MDMA nessa fase, há um aumento maior na corrente de pico apresentada na análise. O LOD apresentado pela FS é maior que o LOD apresentado na FI, esse resultado é esperado diante da detectabilidade e sensibilidade supracitada em cada fase.

5.10 Partição do MDMA no SAB

Para o estudo de partição foi montado um sistema sem a presença do MDMA e sistemas com a adição do analito a uma concentração de 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$ na preparação da solução do polímero antes da montagem do sistema, conforme descrito na parte experimental. Os

cálculos da quantidade de MDMA em cada fase foram realizados com o auxílio do programa Excel, e os resultados são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6 - Partição do MDMA no SAB

Amostras	MDMA no sistema		MDMA calculado (FS)			MDMA calculado (FI)			MDMA calculado (Total)		
	(Valor teórico)										
	μmol	mg	μmol	mg	%	μmol	mg	%	μmol	mg	%
MDMA 1	0,271	0,052	0,253	0,049	93	0,023	0,005	9	0,278	0,054	102
MDMA 2	0,271	0,053	0,258	0,050	95	0,022	0,004	8	0,280	0,054	103
MDMA 3	0,263	0,051	0,262	0,051	99	0,023	0,005	10	0,287	0,056	109

O MDMA apresenta mais afinidade com a FS, a porcentagem média de analito nessa fase é de 95%, já na FI, a porcentagem média é de 9%. A partição do MDMA foi calculada pela equação 13.

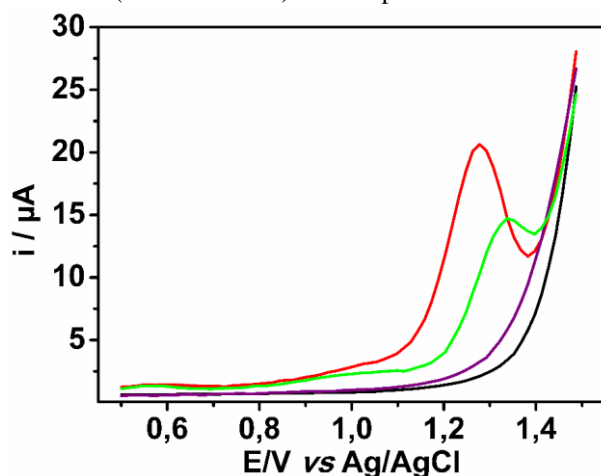
$$K = \frac{[analito_{sup}]}{[analito_{inf}]} \quad (13)$$

Onde $[analito_{sup}]$ e $[analito_{inf}]$ são as concentrações do MDMA na FS e inferior, respectivamente. O K é um parâmetro termodinâmico que mostra a afinidade do analito em cada fase. A constante K obtido para o MDMA foi 10,9 o que mostra a sua afinidade com a FS. Cabe ressaltar que, a constante K pode ser influenciado por diversos fatores como o pH do sistema, a temperatura, a natureza química e concentração dos componentes utilizados no SAB, massa molar e concentração do polímero, o tipo de sal inorgânico utilizado e concentração. Assim, o valor do K obtido do MDMA pode variar de acordo com variações no sistema e do sistema (SILVA E LOH, 2006; DE BRITO, 2007).

5.11 Análise da saliva no SAB

Após o estudo do comportamento eletroquímico do MDMA nas fases do sistema, foi analisado o perfil eletroquímico da saliva natural de forma individual no SAB. Para isso, foi feita a coleta da saliva utilizando o Salivette®, conforme descrito na parte experimental. Para realização dos primeiros estudos o sistema foi preparado e a diluição de três vezes da amostra de saliva foi feita após a separação e coleta das fases. A Figura 33 mostra um voltamograma de pulso diferencial da saliva utilizando as fases como eletrólito e seus respectivos brancos.

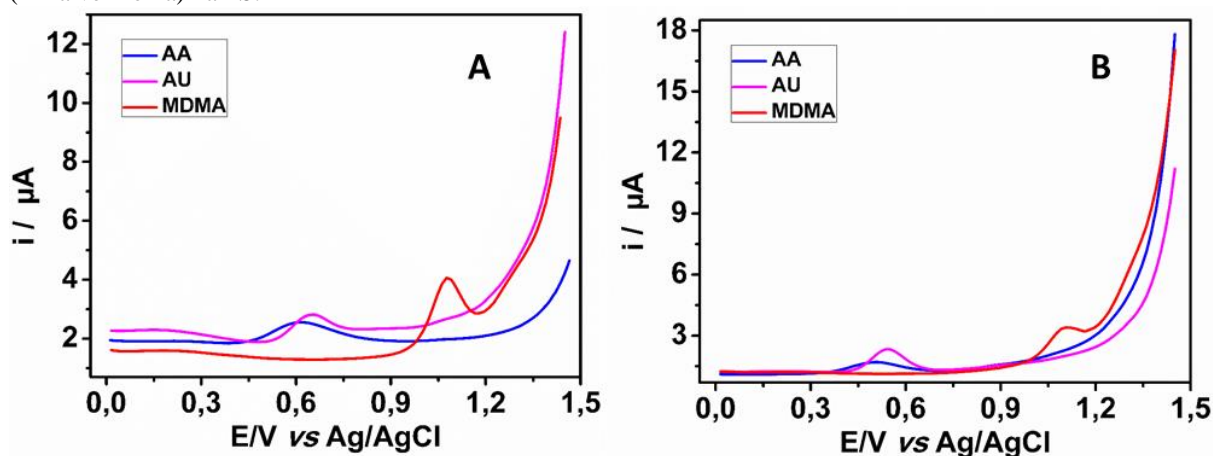
Figura 33 - VPD da FS (linha roxa) em branco, da saliva na FS (linha verde), da FI (linha preta) em branco e da saliva na FI (linha vermelha) com amplitude 100mV e velocidade de varredura 10mV s⁻¹.



Como observado na Figura 33 a saliva natural apresenta processos de oxidação nas duas fases do sistema. Com adição da saliva realizada após a separação das fases permite avaliar o seu comportamento em ambos eletrólitos, assim, a saliva apresentou oxidação em potencial +1,00 V e +1,35 V na FS e na FI o pico anódico é observado no potencial +1,25 V.

A saliva é uma amostra complexa e sua composição pode variar para cada pessoa. Porém alguns compostos são encontrados com maior frequência, como o AU e AA (LEE; COMPTON, 2015), substâncias eletroativas que podem ser interferentes do MDMA na sua análise dentro desse meio. Assim, o AU e AA foram estudados nas fases do sistema (Figura 34).

Figura 34 - A) Voltamogramas de pulso diferencial do AA (linha azul), AU (linha rosa) e do MDMA (linha vermelha) na FI; B) Voltamogramas de pulso diferencial do AA (linha azul), AU (linha rosa) e do MDMA (linha vermelha) na FS.



Como mostrado na Figura 34, o AU apresenta um processo de oxidação em +0,55 V e +0,50 V na FS e inferior, respectivamente. Já o AA apresenta um pico de oxidação próximo ao AU, em +0,50 V na FS e +0,60 V, na FI. São potenciais bem distantes do potencial apresentado pelo MDMA. A análise do MDMA na presença dos possíveis interferentes também foi realizada e não apresenta mudança de corrente de pico significativa entre as análises, o que evidencia a não influência dos ácidos (AA e AU) sobre a análise de MDMA.

Diante disso, um estudo de partição da saliva foi realizado. Como descrito na parte experimental, os estudos de partição foram realizados com a adição da amostra no preparo da solução de PEG 1500 a 50,31% e em seguida o sistema foi montado normalmente. Nesse estudo verificou que os componentes eletroativos presentes na saliva são identificados somente na FS, não apresentando sinal de oxidação na FI (Figura 35).

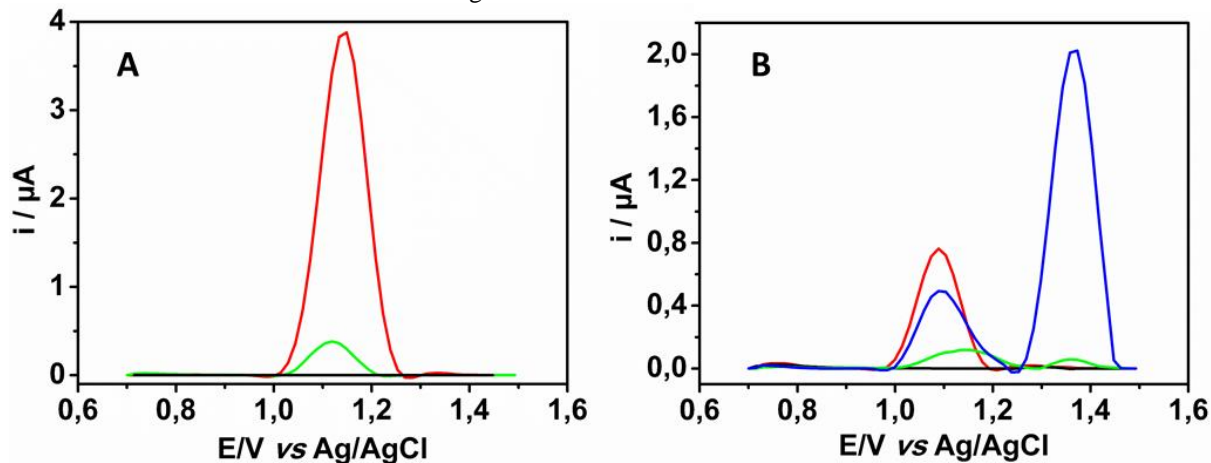
Com isso, um novo estudo de partição do MDMA foi realizado em presença da saliva para avaliar a influência da saliva sobre a partição do MDMA no sistema. Os resultados são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Partição do MDMA em presença de saliva no SAB.

Amostras	MDMA no sistema			MDMA calculado (FS)			MDMA calculado (FI)			MDMA calculado (Total)		
	(Valor teórico)											
	μmol	mg		μmol	mg	%	μmol	mg	%	μmol	mg	%
MDMA 1	0,310	0,060		0,174	0,034	56	0,0267	0,0052	9	0,201	0,039	65
MDMA 2	0,278	0,054		0,195	0,038	70	0,0250	0,0048	9	0,220	0,043	79
MDMA 3	0,231	0,045		0,155	0,030	67	0,0204	0,0039	9	0,176	0,034	76

Como apresentado na Tabela 7, a análise de MDMA na FI não é alterada na presença de saliva, as porcentagens calculadas nos dois estudos são próximas, isso se deve ao fato dos constituintes eletroativos da saliva não serem identificados neste meio. Já na FS se observa uma grande variação da porcentagem do MDMA quantificado, pelos estudos houveram uma diminuição de 30% em relação aos valores apresentados na Tabela 6. Além disso, a reprodutibilidade dos resultados também foi afetada. Esse resultado é esperado já que os interferentes presentes na saliva foram identificados na FS do sistema. A Figura 35 mostra os voltamogramas do estudo.

Figura 35 - A) VPD da FI somente com adição da saliva (linha preta), com adição somente do MDMA (linha vermelha) e adição da saliva dopada com MDMA (linha verde); B) VPD da FS em branco (linha preta), da FS com adição da saliva (linha verde), com adição do MDMA (linha vermelha) e com adição da saliva dopada com MDMA (linha azul). As análises foram realizadas com amplitude 100mV e velocidade de varredura de 10mV s^{-1} . Os dados foram tratados corrigindo a linha de base.



Na Figura 35 mostra o MDMA em cada fase isoladamente e em presença da saliva. Nota-se que na FI (Figura 35A), mesmo em presença de saliva é possível identificar o MDMA. Na Figura 35B pode se notar que na FS são identificados dois picos de oxidação, o primeiro referente ao MDMA e o segundo referente à saliva, sendo esse último pico aumentado quando na presença de MDMA, que pode ser devido algum metabolito desse composto observado somente na FS.

Diante dos estudos realizados, a FI apresentou melhores condições para análise do MDMA, como maior faixa linear, menor LOD, maior detectabilidade e sensibilidade além de não identificar os componentes eletroativos presente na saliva ou de possíveis metabolitos do MDMA nessa amostra. Dessa forma, os estudos realizados mostraram que o SAB pode ser eficiente para extração de MDMA em saliva para detecção eletroquímica utilizando a FI no caso desse analito.

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho apresentou um método simples e rápido para identificação preliminar de MDMA em amostras apreendidas utilizando um sensor eletroquímico não modificado e altamente estável. A técnica de VPD usando o eletrodo de BDD também mostrou que pode ser usada como uma alternativa de baixo custo para quantificação do MDMA em amostras forenses com alta sensibilidade e ampla faixa linear. Esses resultados mostram que o método proposto pode ser aplicado com sucesso para testes preliminares e triagem mais eficiente em apreensões de *ecstasy*.

O presente trabalho também mostra a possibilidade da utilização de um método de extração, o SAB, para detecção eletroquímica de MDMA em amostra de saliva humana, permitindo uma análise rápida e não invasiva que pode identificar motorista em trânsito sob efeitos de *ecstasy*, além de outras aplicações forenses. O SAB mostrou-se eficiente e com vantagens de não usar solventes orgânicos para extração do MDMA em saliva proporcionando um grande potencial para aplicação de métodos eletroanalíticos em matrizes mais complexas. Além disso, os estudos realizados abrem possibilidade de novos estudos envolvendo associação dos métodos eletroquímicos e o SAB, com novos tipos de amostra, analitos e novas finalidades.

REFERÊNCIAS

- ALI, H. S.; ABDULLAH, A. A.; PINAR, P. T.; YARDIM, Y.; SENTÜRK, Z. **Simultaneous voltammetric determination of vanillin and caffeine in food products using an anodically pretreated boron-doped Diamond electrode: Its comparison with HPLC-DAD.** Talanta. 2017.
- ALMEIDA, S. P.; SILVA, M. T. A. **Ecstasy (MDMA): Effects and patterns of use reported by users in São Paulo.** Rev. Bras. Psiquiatr. 25(1):11-7. 2003.
- ALMEIDA, S. P.; SILVA, M. T. A. **Histórico, efeitos e mecanismo de ação do êxtase (3,4-metilenodioximetanfetamina): revisão da literatura.** Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health 8(6). 2000.
- ALVARENGA, J. M. DE; FIDELES, R. A.; DA SILVA, M. V.; MURARI, G. F.; TAYLOR, J. G.; DE LEMOS, L. R.; RODRIGUES, G. D.; MAGESTE, B. **Partition study of textile dye Remazol Yellow Gold RNL in aqueous two-phase systems.** Fluid Phase Equilibria 391, 1–8. 2005.
- BARNES, A. J.; SCHEIDWEILER, K. B.; KOLBRICH-SPARGO, E. A.; GORELICK, D. A.; GOODWIN, R. S.; HUESTIS, M. A. **MDMA and Metabolite Disposition in Expectorated Oral Fluid After Controlled Oral MDMA Administration.** Ther Drug Monit. Volume 33, Number 5, October 2011.
- BULCÃO, R.; GARCIA, S. C.; LIMBERGER, R. P.; BAIERLE, M.; ARBO, M. D.; CHASIN, A. A. DA M.; THIESEN, F. V.; TAVARES, R. **Designer Drugs: Aspectos Analíticos e Biológicos.** Quim. Nova. Vol. 35. No. 1. 149-158. 2012.
- BUTLER, D.; PRAVDA, M.; GUILBAULT, G. G. **Development of a disposable amperometric immunosensor for the detection of ecstasy and its analogues using screen-printed electrodes.** Analytica Chimica Acta. 556, p 333-339. 2006.
- CARVALHO, R. DE A. **Diagramas de fase de sistemas aquosos bifásicos compostos por peo 400 + sais inorgânicos + água e estudo da extração de ácido monometilarsônico (mma) utilizando sistema aquoso bifásico.** Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2017.
- CARVALHO, T.; FINOTELLI, P. V.; BONOMO, R. C. T.; FRANCO, M.; AMARAL, P. F. **Evaluating Aqueous Two-phase Systems for *Yarrowia lipolytica* Extracellular Lipase Purification.** Process Biochemistry. 2016.
- CHOMISTEKOVÁ, Z.; CULKOVÁ, E.; BELLOVÁ, R.; MELICHERCÍKOVÁ, D.; DURDIÁK, J.; TIMKO, J.; RIEVAJ, M.; TOMCIK, P. **Oxidation and reduction of omeprazole on boron-doped diamond electrode: Mechanistic, kinetic and sensing performance studies.** Sensors and Actuators B. 2016.
- CLAUWAERT, K. M.; BOCXLAER, J. F. V.; LETTER, L. A.; CALENBERGH, S. V.; LAMBERT, W. E.; LEENHEER, A. P. **Determination of the Designer Drugs 3,4-Methylenedioxymethamphetamine, 3,4-Methylenedioxyethylamphetamine, and 3,4-**

Methylenedioxyamphetamine with HPLC and Fluorescence Detection in Whole Blood, Serum, Vitreous Humor, and Urine. Clinical chemistry, 46:12 p. 1968-1977, 2000.

CONCHEIRO, M.; CASTRO, A.; QUINTELA, O.; LÓPEZ-RIVADULLA, M.; CRUZ, A. **Determination of MDMA, MDA, MDEA and MBDB in oral fluid using high performance liquid chromatography with native fluorescence detection.** Forensic Science International 150 p. 221–226, 2005.

DA SILVA, A. R. G. **Estudos termodinâmicos em sistemas de duas fases aquosas para a purificação de bromelina de resíduos agroindustriais.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Federal de Campinas, Campinas. 2014.

DE BARROS, R. C. M.; RIBEIRO, M. C.; AN-SUMODJO, P. T.; JULIÃO, M. S. DA S.; SERRANO, H. P. **Filmes de Dimante CVD dopado com boro. Parte I. Histórico, produção e características.** Química Nova. Vol. 28, No. 2, 317-325, 2005.

DE BRITO, G. M. **Termodinâmica de Partição do Ânion[Co(N)₂]₆]³⁻ em sistemas aquosos bifásicos.** Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2007.

DE LETTER, E. A.; PAEPE, P. DE; CLAUWAERT, K. M.; BELPAIRE, F. M.; LAMBERT, W. E.; BOCXLAER, J. F. V.; PIETTE, M. H. A. **Is vitreous humour useful for the interpretation of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) blood levels? Experimental approach with rabbits.** Springer-Verlag, 114, P. 29-35, 2000.

DOS SANTOS, S. B. **DETERMINAÇÃO VOLTAMÉTRICA SIMULTÂNEA DE CHUMBO, CÁDMIO E ZINCO EM AMOSTRAS DE COSMÉTICOS UTILIZANDO O ELETRODO DE FILME DE BISMUTO.** Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. 2016.

DUARTE, E. H.; CASARIN, J.; SARTORI, R.; TARLEY, C. R. T. **Highly Improved Simultaneous Herbicides Determination in Water Samples by Differential Pulse Voltammetry using Boron-Doped Diamond Electrode and Solid Phase Extraction on Cross-Linked Poly(vinylimidazole).** Sensors and Actuators B. 2017.

FATIBELLO-FILHO, O. **Equilíbrio químico: aplicações em química analítica.** São Carlos: EdUFSCar, 2016.

FEIER, B.; GUI, A.; CRISTEA, C.; SANDULESCU, R. **Electrochemical determination of cephalosporins using a bare boron-doped diamond.** Analytica Chimica Acta. 2017.

FELIM, A.; URIS, A.; NEUDORFFER, A.; HERRERA, G.; BLANCO, M.; LARGERON, M. **Bacterial Plate Assays and Electrochemical Methods: An Efficient Tandem for Evaluating the Ability of Catechol-Thioether Metabolites of MDMA (“Ecstasy”) to Induce Toxic Effects through Redox-Cycling.** Chem. Res. Toxicol, Vol. 20, No. 4, 2007.

FREIRE, M. G.; NEVES, C. M. S. S.; MARRUCHO, I. M.; LOPES, J. N. C.; REBELO, L. P. N.; COUTINHO, J. A. P. **High-performance extraction of alkaloids using aqueous two-phase systems with ionic liquids.** Green Chem. 12, 1715–1718. 2010.

GARCIA-SEGURA, S.; SANTOS, E. V.; MARTÍNEZ-HUITLE, C; A.; **Role of sp^3/sp^2 ratio on the electrocatalytic properties of boron-doped diamond electrodes: A mini review.** Electrochemistry Communications. 2015.

GARRIDO, E. M. P. J.; GARRIDO, J. M. P. J.; MILHAZES, N.; BORGES, F.; OLIVEIRA-BRETT, A. M. **Electrochemical oxidation of amphetamine-like drugs and application to electroanalysis of ecstasy in human serum.** Bioelectrochemistry, 79, p. 77-83, 2010.

GIRARD, H.; SIMON, N.; BALLUTAUD, D.; HERLEM, M.; ETCHEBERRY, A. **Effect of anodic and cathodic treatments on the charge transfer of boron doped diamond electrodes.** Diamond & Related Materials. 16, p 316-325. 2007.

GUEDES, T. de J.; ANDRADE, G. A. R.; LIMA, A. B.; DA SILVA, R. A. B.; DOS SANTOS, W. T. P. **Simples and Fast Determination of Warfarin in Pharmaceutical Samples Using Boron-doped Diamond Eletrode in BIA and FIA Systems with Multiple Pulse Amperometric Detection.** Electroanalysis. 29, 2340-2347. 2017.

GREEN, A. R.; MECHAN, A. O.; ELLIOTT, J. M.; OSHEA, E.; COLADO, M. I. **The Pharmacology and Clinical Pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, “Ecstasy”)** Pharmrec Fast Forward. 2003.

JÚNIOR, J. A. **Efeito hidrofóbico de macromoléculas sobre a partição de cianocomplexos em sistemas aquosos bifásicos.** Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2006.

LARANJEIRA, R.; MADRUGA, C. S.; PINSKY, I.; CAETANO, R.; MITSUHIRO, S. S.; MADRUGA, C. S.; CAETANO, R.; CASTELLO, G. **II Levantamento Nacional de Álcool e Drogas (LENAD).** Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Políticas Públicas de Álcool e Outras Drogas (INPAD), UNIFESP, Sao Paulo. 2014.

KANG, C.; WANG, W.; LI, R.; DU, Y.; LI, J.; ZHANG, B.; ZHOU, L.; DU, Y. **A modified spectrophotometric method for the determination of trace amounts of phenol in water.** Microchemical Jouinal 64 161-171. 2000.

KASAHARA, S.; NATSUI, K.; WATANABE, T.; YOKOTA, Y.; KIM, Y.; IIZUKA, S.; TATEYAMA, Y.; EINAGA, Y. **Surface Hydrogenation of Boron-Doped Diamond Electrodes by Cathodic Reduction.** Anal. Chem.89, 11341-11347. 2017.

KIKURA-HANAJIRI, R.; KAWAMURA, M.; MIYAJIMA, A.; SUNOUCHI, M.; GODA, Y. **Determination of a new designer drug, N-hydroxy-3,4-methylenedioxymethamphetamine and its metabolites in rats using ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry.** Forensic Science International, 198, p. 62–69, 2010.

LEE, P. T.; COMPTON, R. G. **Selective electrochemical detection of thiol biomarkers in saliva using multiwalled carbon nanotube screen-printed electrodes.** Sensors and Actuators B 209 983–988. 2015.

- LI, S.; HE, C.; LIU, H.; LI, K.; LIU, F. **Ionic liquid-based aqueous two-phase system, a sample pretreatment procedure prior to high-performance liquid chromatography of opium alkaloids.** *J. Chromatogr. B* 826, 58–62. 2005.
- LIM, J. K. **The Hitachi La Chrom Elite HPLC Automated Method Development System: Polar Reversed Phase Separations.** Hitachi High Technologies America. September. 2003.
- MARTINS, J. P.; CARVALHO, C. DE P.; DA SILVA, L. H. M.; COIMBRA, J. S. DOS R.; DA SILVA, M. DO C. H.; RODRIGUES, G. D.; MINIM, L. A. **Liquid-Liquid Equilibria of an Aqueous Two-Phase System Containing Poly(ethylene) Glycol 1500 and Sulfate Salts at Different Temperatures** *Journal Chem. Eng.* 53, 238–24, 2008.
- MACEDO, C.; BRANCO, P. S.; FERREIRA, L. M.; LOBO, A. M.; CAPELA, J. P.; FERNANDES, E.; BASTOS, M. DE L.; CARVALHO, F. **Synthesis and Cyclic Voltammetry Studies of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) Human Metabolites.** *Journal of Health Science*, 53 (1) p. 31-42, 2007.
- MICHEL, R. E.; REGE, A. B.; GEORGE, W. J. **High-pressure liquid chromatography/electrochemical detection method for monitoring MDA and MDMA in whole blood and other biological tissues.** *Journal of Neuroscience Methods*, 50, p. 61-66, 1993.
- MILHAZES, N.; MARTINS, P.; URIARTE, E.; GARRIDO, J.; CALHEIROS, R.; MARQUES, M. P. M.; BORGES, F. **Electrochemical and spectroscopic characterisation of amphetamine-like drugs: Application to the screening of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and its synthetic precursors.** *Analytica Chimica Acta* 596, p. 231–241, 2007.
- MIRANDA, J. A. T.; CUNHA, R. R.; GIMENES, D. T.; MUNOZ, R. A. A.; RICHTER, E. M. **Determinação simultânea de Ácido Ascórbico e Ácido Acetilsalicílico usando análise por injeção em fluxo com detecção amperométrica pulsada.** *Química Nova*. Vol. 35, No 7, 1459-1463, 2012.
- NAGARAJ, P.; BHANDARI, J. M.; ACHAR, B. N. **Rapid spectrophotometric determination of trace amounts of phenol.** *Indian Journal of Chemistry*. Vol. 32A. pp. 641-643. July 1993.
- NESI, F. **A relação entre o uso de álcool e drogas para os afastamentos do trabalho.** Monografia (Especialização em Saúde Mental). Universidade do extremo sul catarinense. Criciúma, 2013.
- PACHECO, W. F.; SEMAAN, F. S.; ALMEIDA, V.G. K.; RITTA, A. G. S. L.; AUCÉLIO, R. Q. **Voltametrias: Uma Breve Revisão sobre os conceitos.** *Rev. Virtual Química*. 5(4), 516-537. 2013.
- PEDROTTI, J. J.; ANGNES, L.; GUTZ, I. G. R. **Miniaturized Reference Electrodes with Microporous Polymer Junctions.** *Electroanalysis* 8 No 7. 1996.
- PETERS, F. T.; SAMYN, N.; KRAEMER, T.; RIEDEL, W. J.; MAURER, H. H. **Negative-Ion Chemical Ionization Gas Chromatography–Mass Spectrometry Assay for**

Enantioselective Measurement of Amphetamines in Oral Fluid: Application to a Controlled Study with MDMA and Driving Under the Influence Cases. *Clinical Chemistry*, 53, No. 4, p. 702-710, 2007.

PIMENTEL, M. I. S. DA S. T. **MDMA e seus metabolitos: efeitos vascular e toxicidade.** Dissertação (Mestrado em Farmacologia Aplicada). Universidade de Coimbra. Portugal. 2014.

PROSSER, J. M., NELSON, L. S. **The Toxicology of Bath Salts: A Review of Synthetic Cathinones.** *J. Med. Toxicology*. 8: 33-42. 2012.

PORTO, S. K. S. S.; NOGUEIRA, T.; BLANES, L.; DOBLE, P.; SABINO, B. D.; DO LAGO, C.L.; ANGENES, L. **Analysis of Ecstasy tablets using capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection.** *J Forensic Sci*, Vol. 59, No. 6. 2014.

RAGO, M. D.; CHU, M.; RODDA, L. N.; JENKINS, E.; KOTSOS, A.; GEROSTAMOULOS, D. **Ultra-rapid targeted analysis of 40 drugs of abuse in oral fluid by LC-MS/MS using carbon-13 isotopes of methamphetamine and MDMA to reduce detector saturation.** *Anal bioanal chem* 408, p. 3737-3749, 2016.

RASMUSSEN, L. B.; OLSEN, K. H.; JOHANSEN, S. S.; **Chiral separation and quantification of R/S-amphetamine, R/S-methamphetamine, R/S-MDA, R/S-MDMA, and R/S-MDEA in whole blood by GC-EI-MS.** *Journal of Chromatography B*, 842, p. 136–141, 2006.

RODRIGUES, G. D.; DE LEMOS, L. R.; DA SILVA, L. H. M.; DA SILVA, M. DO C. H.; MINIM, L. A.; COIMBRA, J. S. DOS R. **A green and sensitive method to determine phenols in water and wastewater samples using an aqueous two-phase system.** *Talanta* 80 1139-1144. 2010.

RODRIGUES, O. R. L.; **Avaliação farmacológica no Sistema nervosa central de um novo derivado piperazínico LQFM 104.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

ROMÃO, W.; SCHWAB, N. V.; BUENO, M. I. M. S.; SPARRAPN, R.; EBERLIN, M. N.; MARTINY, A.; SABINO, B. D.; MALDANER, A. O. **Química Forense: Perspectivas sobre Novos Métodos Analíticos Aplicados à Documentoscopia, Balística e Drogas de Abuso.** *Quim. Nova*. Vol. 34, No 10, 1710-1728. 2011.

SALAZAR-BANDA, G. R.; CARVALHO, A. E. DE; ANDRADE, L. S.; ROCHA-FILHO, R. C.; AVACA, L. A. **On the activation and physical degradation of boron-doped diamond surfaces brought on by cathodic pretreatments.** *J Appl Electrochem* 40:1817–1827. 2010.

SANTOS, L. H. **Separação de níquel a partir de soluções sulfúricas contend cálcio e magnésio utilizando sistemas aquosos bifásicos.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2014.

- SCHEIDWEILER, K. B.; BARNES, A. J.; HUESTIS, M. A. **A validated gas chromatographic–electron impact ionization mass spectrometric method for methamphetamine, methylenedioxymethamphetamine (MDMA), and metabolites in mouse plasma and brain.** Journal of chromatography B. 876, p. 266-276, 2008.
- SILVIA, L. H. M. da; LOH, W. **Sistemas Aquosos Bifásicos: Fundamentos e Aplicações para Partição/Purificação de Proteínas.** Quim Nova. Vol. 29, No. 6, 1345-1351, 2006.
- SILVIA, M. C. H.; DA SILVA, L. H. M.; PAGGIOLI, F. J.; COIMBRA, J. S. R.; MINIM, L. A. **Sistemas Aquosos Bifásicos: Uma Alternativa Eficiente para Extração de Ions.** Quim. Nova, Vol. 29, No. 6, 1332-1339, 2006.
- SIMON, N.; GIRARD, H.; BALLUTAUD, D.; GHODBANE, S.; DENEUVILLE, A.; HERLEM, M.; ETCHEBERRY, A. **Effect of H and O termination on the charge transfer of moderately boron doped diamond electrodes.** Diamond and Related materials. 14, 1179-1182. 2005.
- SIQUEIRA, A. C. DE A. **Partição de antocianinas do açaí por meio de sistemas aquosos bifásicos.** Tese (Doutorado em Química) Universidade Federal do Ceará. Fortaleza. 2018.
- SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R.; **Fundamentos de química analítica,** Reverté. 1979.
- SOUZA, G. A.; ARANTES, L. C.; GUEDES, T. J.; OLIVEIRA, A. C. DE; MARINHO, P. A.; MUÑOZ, R. A. A.; DOS SANTOS, W. T. P. **Voltammetric signatures of 2,5-dimethoxy-N-(2-methoxybenzyl)phenethylamines on boron-doped diamond electrodes: Detection in blotting paper samples.** Electrochemistry communications. 2017.
- STANKOVIC, D. M.; KALCHER, K. **Amperometric quantification of the pesticide ziram at boron doped diamond electrodes using flow injection analysis.** Sensors and Actuators B. 233 144-147. 2016.
- SVORC, L.; BOROVSÁ, K.; CONKOVÁ, K.; STANKOVIC, D. M.; PLANKOVÁ, A. **Advanced electrochemical platform for determination of cytostatic drug flutamide in various matrices using a boron-doped diamond electrode.** Electrochimica Acta. 2017.
- TADINI, M. C.; BALBINO, M. A.; ELEOTERIO, I. C.; OLIVEIRA, L. S. DE; DIAS, L. G.; DEMETS, G. J.; DE OLIVEIRA, M. F. **Developing electrodes chemically modified with cucurbit[6]uril to detect 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) by voltammetry.** Eletrochimica acta, 121, p. 188-193, 2014.
- TEIXEIRA, A. C. A. C. **Efeitos da MDMA (ecstasy) sobre os receptores HT na artéria mamária interna humana.** Dissertação (Mestrado em Química Medicinal). Universidade de Coimbra, Portugal. 2015.
- TEIXEIRA, M. F. N. **PRODUÇÃO DE LIPASE POR *Candida viswanathii*: OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE CULTIVO, PURIFICAÇÃO EM SISTEMA AQUOSO BIFÁSICO E PROPRIEDADES BIOQUÍMICAS.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) Universidade Federal do Tocantins. Gurupi. 2017.

UNITED NATIONS OFFICE ON DRUGS AND CRIME. World Drug Report. May 2016.

WEI, M.; FENG, S. **Amperometric determination of organophosphate pesticides using a acetylcholinesterase based biosensor made from nitrogen-doped porous carbono deposited on a boron-doped Diamond eletrode.** Microchim Acta. 2017.

XAVIER, C. A. C.; LOBO, P. L. D.; FONTELES, M. M. DE F.; VASCONCELOS, S. M. M. DE; VIANA, G. S. DE B.; DE SOUZA, F. C. F. **Êxtase (MDMA): efeitos farmacológicos e tóxicos, mecanismo de ação e abordagem clínica.** Revista de Psiquiatria Clínica. 35 (3); 96-103. 2007.

ZUIN, V. G. **A inserção da Química Verde nos programas de pós-graduação em Química do Brasil: tendências e perspectivas.** RBPG, Brasília, v. 10, n. 21, p. 557 - 573, 2013.

APÊNDICE A - PRODUÇÕES CIENTÍFICAS

TEÓFILO, K. R.; SOUZA, G. A.; GUEDES, T. J.; OLIVEIRA, A. C.; ARANTES, L. C.; SANTOS, W. T. P. Estudos para a determinação de MDMA (Ecstasy) por voltametria de pulso diferencial usando eletrodo de diamante dopado com boro. In: XXI Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, Natal, 2017.

TEÓFILO, K. R.; SOUZA, G. A.; GUEDES, T. J.; ARANTES, L. C.; OLIVEIRA, A. C.; SANTOS, W. T. P. Determination of MDMA (Ecstasy) in Tablets and Saliva using Electrochemical Detection with boron-doped Diamond electrode. In: InterFORENSICS - Conferência Internacional de Ciências Forenses, Brasília, 2017.

TEÓFILO, K. R.; LIMA, A. B.; SOUZA, G. A.; SANTOS, W. T. P. Determinação de MDMA (Ecstasy) por voltametria de pulso diferencial usando eletrodo de diamante dopado com boro. In: XXXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, Itajubá, 2017.

TEÓFILO, K. R.; ROCHA, D. P.; PIMENTEL, D. M.; ARANTES, L. C.; OLIVEIRA, A. C.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A.; SANTOS, W. T. P. Ecstasy Determination by Pulse Voltametry in Saliva and Tablets using Boron-Doped Diamond Electrode. In: 19° ENQA – Encontro Nacional de Química Analítica e 7° CIAQA – Congresso Iberoamericano de Química Analítica. Caldas Novas, 2018.

SANTOS, L. M.; PIMENTEL, D. M.; **TEÓFILO, K. R.;** ARANTES, L. C.; SANTOS, W. T. P. Estudos para identificação e quantificação do 25I-NBOH por Voltametria de Onda Quadrada usando o eletrodo de Diamante dopado com Boro. In: 19° ENQA – Encontro Nacional de Química Analítica e 7° CIAQA – Congresso Iberoamericano de Química Analítica. Caldas Novas, 2018.

TÉFILO, K. R.; MATINS, D. P.; LEMOS, L. R.; SANTOS, W. T. P. Determinação de MDMA em comprimido e saliva por Voltametria de Pulso Diferencial usando Diamante dopado com boro. In: VII Encontro da Química, Departamento de Química – UFVJM. Diamantina, 2018.